

TRANSACTIONS
OF THE
Seventh International Congress
OF
Hygiene & Demography.



M16120



22101877750

E

TRANSACTIONS

OF THE

Seventh International Congress of Hygiene and Demography.

LONDON, AUGUST 10TH-17TH, 1891.

Patron:—HER MAJESTY THE QUEEN.

President:—H.R.H. THE PRINCE OF WALES, K.G.

VOLUME II.

SECTION II.

BACTERIOLOGY.



EDITED BY C. E. SHELLY, M.A., M.D.,
Assisted by the HONORARY SECRETARIES of the SECTION.

LONDON:
PRINTED BY EYRE AND SPOTTISWOODE,
PRINTERS TO THE QUEEN'S MOST EXCELLENT MAJESTY.

1892.

650

Reference Library	
No. 3	48

WITHDRAWN

614.06 B

Battersea Public Library.

M16120

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY	
Coll.	welMOmec
Call	
No.	WAS
	1891
	Ilalt



OFFICERS OF THE SECTION.

PRESIDENT.

SIR JOSEPH LISTER, Bart., LL.D., F.R.S., &c., London.

HONORARY PRESIDENTS.

M. LOUIS PASTEUR, Pasteur Institute, Paris.
Dr. ROBERT KOCH, Hygienic Institute, Berlin.

VICE-PRESIDENTS.

Dr. GEORGE BUCHANAN, F.R.S., Local Government Board, Whitehall.
Prof. BURDON SANDERSON, F.R.S., Physiological Laboratory, University of Oxford.
Dr. E. KLEIN, F.R.S., London.

HONORARY VICE-PRESIDENTS.

Prof. ARLOING, Ecole Vétérinaire, Lyons.
Prof. BABES, Pathological Institute, Bucharest.
Prof. BRIEGER, Hygienic Institute, Berlin.
Dr. HANS BUCHNER, Hygienic Institute, Munich.
Dr. BEHRING, Hygienic Institute, Berlin.
Prof. CELLI, Hygienic Institute, Rome.
Prof. CHAUVEAU, Le Muséum, Paris.
Prof. CORNIL, Ecole de Médecine, Paris.
Prof. EHRLICH, Hygienic Institute, Berlin.
Prof. FODOR, Hygienic Institute, Budapest.
Prof. CARL FRAENKEL, Hygienic Institute, Königsberg.
Prof. MAX GRÜBER, Hygienic Institute, Vienna.
Prof. HUEPPE, Hygienic Institute, Prague.
Prof. KLEBS, Pathological Institute, Zurich.
Dr. ELIAS METCHNIKOFF, D.Sc., Cantab., Pasteur Institute, Paris.
Prof. PONFICK, Pathological Institute, Breslau.
Dr. ROUX, Pasteur Institute, Paris.
Prof. WEICHSELBAUM, Pathological Institute, Vienna.
Prof. SALMON, Bureau of Animal Industry, Washington.

COUNCIL.

Dr. LAUDER BRUNTON, F.R.S., London.
Prof. W. WATSON CHEYNE, London.
Prof. CROOKSHANK, M.B., London.
Prof. DRESHFELD, Owen's College, Manchester.
Prof. W. S. GREENFIELD, Pathological Laboratory, Edinburgh.
Prof. D. J. HAMILTON, Pathological Laboratory, Aberdeen.
Prof. VICTOR HORSLEY, London.
Prof. E. RAY LANKESTER, Zoological Laboratory, Oxford.
Prof. ALEX. OGSTON, Aberdeen.
Dr. F. J. PAYNE, London.
SIR WILLIAM ROBERTS, F.R.S., London.
Prof. C. S. ROY, F.R.S., Pathological Laboratory, Cambridge.
Dr. G. SIMS WOODHEAD, The Conjoint Laboratories, London.

MUSEUM AND LABORATORY COMMITTEE.

Dr. J. GEORGE ADAMI, Jesus College, Cambridge.
 T. J. BOKENHAM, Esq., M.R.C.S., London.
 Professor R. BOYCE, University College, London.
 Dr. SHERIDAN DELÉPINE, Owen's College, Manchester.
 E. H. HANKIN, Esq., B.A., St. John's College, Cambridge.
 Dr. ALLAN MACFADYEN, The College of State Medicine, London.
 Dr. McWEENEY, Dublin.
 ANDREW PRINGLE, Esq., London.
 S. G. SHATTOCK, Esq., F.R.C.S., London.
 Dr. WASHBOURN, London.
 Dr. CARTWRIGHT WOOD, Conjoint Laboratories, London.

HONORARY SECRETARIES.

Dr. WILLIAM HUNTER, College of Surgeons, London.
 Dr. M. ARMAND RUFFER, Conjoint Laboratories, London.
 Dr. C. S. SHERRINGTON, The Brown Institution, London.



NOTE.

As was to be expected, Section II. (Bacteriology) and Section III. (The Relations of the Diseases of Animals to those of Man) to some extent overlap,—insomuch as each is concerned with certain subjects which may be regarded as more or less common to both Sections, while belonging exclusively to neither. Of such subjects, Rabies and Tuberculosis are conspicuous examples, and papers under each of these headings were contributed to both Sections. In order, therefore, to avoid needless repetition or discontinuity, as well as to make reference easier, it has been decided to group all the papers on Tuberculosis in Volume II. and all those on Rabies in Volume III. Appropriate notes and cross references will serve to indicate the chronological position assigned to each paper in the proceedings of that Section to which it was originally contributed.



TABLE OF CONTENTS.

	Page
Presidential Address - - - - -	9
De l'Étiologie du Paludisme - - - - -	10
Discussion - - - - -	18
Sur les Parasites du globule rouge - - - - -	20
Ueber die Aetiologie und Toxicologie der Cholera asiatica - - - - -	28
Discussion - - - - -	41
The Human Mouth as a Focus of Infection - - - - -	42
Dental Caries - - - - -	57
Discussion - - - - -	59
The Behaviour of Bacteria in the small Intestine of Man - - - - -	60
Ueber eine neue Eiterung erregende Microbieuart; <i>Micromyces Hofmanni</i> -	65
On <i>Streptococcus Pyogenes</i> - - - - -	67
On the question of the Identity of <i>Streptococcus Pyogenes</i> and <i>Streptococcus Erysipelatosus</i> - - - - -	68
An exposition of the reasons for considering cancer to be an Infective Disease - - - - -	70
Recherches sur la nature parasitaire du Cancer - - - - -	81
Psorospermiosis as a possible cause of Epithelial Tumours - - - - -	85
Tumeurs à Coccidies de l'intestin grêle du mouton - - - - -	94
On Bacterial Necrosis of the Liver - - - - -	95
L'Infection hémorrhagique bactérienne chez l'Homme - - - - -	98
The Morphology of Actinomyces - - - - -	105
Demoustration of some Pathogenic Moulds found in Inflammatory lesions of the Skin, etc. - - - - -	107
De l'Immunité : Immunité acquise et Immunité naturelle - - - - -	110
Ueber Immunität, deren natürliches Vorkommen und Künstliche Erzeugung -	124
On Immunity - - - - -	145
Die künstliche Erzeugung von Immunität gegen croupöse Pneumonie und die Heilung dieser Krankheit - - - - -	152
On Wooldridge's method of producing Immunity against Anthrax by the injection of solutions of tissue-fibrinogen - - - - -	164
On Immunity to <i>Diplococcus pneumoniae</i> - - - - -	172
Les Substances microbieides du Sérum - - - - -	173
Discussion - - - - -	175
On the Aetiology of Tuberculosis in all its relations - - - - -	184
*Le Danger supposé de la Consommation du Lait et de la Viande sains en apparence mais provenant d'animaux atteints de la Tuberculose -	193
*On the transmission of Tuberculosis from animals to Man by means of Flesh and Milk derived from tuberculous animals - - - - -	197
Sur l'Utilisation des Viandes des Animaux tuberculeux - - - - -	203
Discussion - - - - -	204
L'emploi de la Tuberculine comme Moyen Préventif et comme Traitement de la Tuberculose - - - - -	209
Ueber neuere Erfahrungen in der Behandlung der Tuberculose nach Koch, insbesondere der Lungenschwindsucht - - - - -	211
Discussion - - - - -	220

* Originally contributed to Section III.

	Page
Pre-tubercular lesions in Phthisis pulmonalis - - - -	222
Contribution à l'Étude de la Tuberculose - - - -	229
Quelques considerations sur l'Hygiène de la Tuberculose - -	231
Inoculated Tuberculosis in Snakes - - - -	234
Demonstration on a case of Tubercular Leprosy - - - -	235
On the presence of Spores of <i>Bacillus Anthracis</i> in the Air -	238
Ueber Desinfection am lebenden Organismus - - - -	239
Discussion - - - -	253
Ueber Desinfectionsmittel und die Methoden ihre Wirksamkeit zu prüfen -	255
Ueber Kresole als Desinfectionsmittel - - - -	263
Discussion - - - -	271
Rapports du <i>Bacillus coli communis</i> avec le bacille d'Eberth et l'étiologie de la Fièvre typhoide - - - -	272
La recherche du Bacille typhique et du <i>Bacillus coli communis</i> dans les Eaux de boisson - - - -	278
Ueber eine ausgebreitete Typhus-epidemie in Verbindung mit Trinkwasser -	282
The Hygienic Value of the Bacteriological Examination of Water -	291
The Bacteriological Examination of Drinking Water, with especial reference to the Dublin Water Supply - - - -	294
Mittheilungen über Versuche mit dem Dr. Nordtmeyer, Berkefeld'schen Kieselguhrfilter - - - -	301
Ueber die Möglichkeit einer vom Brunnerwasser ausgehenden Hühner-Cholera Epidemie - - - -	306
Some Fermentations excited by Specific Micro-organisms - - -	310
The relation of certain Organisms to the Fermentation of Urine -	314
The influence of Microphytes on Arsenical Wall-papers - - -	316
The Bacteriology of Vaccine-Lymph - - - -	319
On the Bacteriology of Vaccine-Lymph - - - -	326
A cheap Incubator and steam Steriliser with improved moist chambers for plate and interlamellar cultivations - - - -	328

INDEX.



SECTION II.

BACTERIOLOGY.

Tuesday, 11th August 1891.

The Chair was occupied by

The President, SIR JOSEPH LISTER, Bart., D.C.L., LL.D., F.R.S.

Presidential Address.

BY

SIR JOSEPH LISTER, Bart., F.R.S., LL.D., etc.

The International Medical Congress of 1881 was graced by the presence of the two foremost workers in this field of research : Pasteur, the father of bacteriology, to the splendour of whose work from first to last I cannot trust myself even to attempt to do justice, and Koch, who has rendered such signal service to the science. Would that the health of the one and the engagements of the other had permitted them to be present to-day.

At that congress Pasteur formulated his position with regard to the attenuation of virus and preventive vaccination against infectious disease ; while Koch demonstrated his method of cultivation on solid media and gave us the opportunity of seeing for the first time the tubercle bacillus which he had just discovered.

During the ten years that have since elapsed Pasteur has done all his wonderful work on rabies ; and Koch has extracted from the tubercle bacillus a material which he has recommended for use for diagnostic and therapeutic purposes in tubercular disease. Whatever may be the ultimate judgment regarding the therapeutic value of this material, there can be no difference of opinion as to the transcendent pathological interest and importance of its effects.

Others, meanwhile, have also cultivated assiduously the wide field of bacteriological science, and the results of their labours have been well worthy of the masters they have followed. Without attempting to note all that had been done, I may remind you that the poisons formed by bacteria have been separated from the microbes that produce them, as was first effected by Roux and Jersin in diphtheria ; Metchnikoff has elaborated and supported by great research his theory of phagocytosis ; Behring and Kitasato have conferred immunity on animals against tetanus by means of an inorganic chemical substance, perchloride of iodine, and have made the discovery that the serum of the blood of an animal so protected

possesses the power of conferring immunity on others; Hankin, in this country, has shown that the injection of a little serum from a rat—an animal naturally immune against anthrax—into a mouse will make the latter also immune; while Vaillard and Vincent have adduced proof that the bacilli of tetanus when washed free from the chemical poisons which they produce are no longer capable of developing among healthy tissues.

These are but samples of what has been accomplished during the last few years.

Those who wish to be convinced of the variety and importance of the recent labours of bacteriologists, have only to visit the museum attached to this section, where they will see an admirable collection of bacteriological exhibits and apparatus brought together, in many cases at great trouble and cost, from all parts of the world. On the part of the Council I desire to return our best thanks to the gentlemen who have rendered us this invaluable assistance.

I will not keep you longer from your labours for which the time at our disposal is all too short, but will at once call on Professor Laveran for the first paper on our list, "On the Etiology of Malaria."

De l'Étiologie du Paludisme.

PAR

A. LAVERAN, Professeur à l'École du Val de Grâce, Paris.

Je dois d'abord remercier l'illustre président de la section de bactériologie, Sir Joseph Lister et les Membres du bureau de cette section qui m'ont fait le très grand honneur de me désigner comme rapporteur de la question de l'étiologie du paludisme. Depuis dix ans j'ai fait du paludisme et de sa nature mon étude de prédilection, je ne pouvais donc pas me dérober à la tâche très flatteuse, mais aussi très difficile qui m'incombe aujourd'hui.

Le paludisme est assurément la plus répandue des maladies endémiques et l'une des plus redoutables; la question de la nature du paludisme présente donc un grand intérêt hygiénique. *Bene scire est per causas scire*, a dit Bacon, cela est particulièrement vrai en hygiène; la prophylaxie des maladies se fait à tâtons, si j'ose ainsi dire, tant qu'on ne connaît pas exactement la cause de ces maladies, dès qu'on connaît cette cause, on va droit au but, la prophylaxie devient plus facile et plus efficace.

Les conditions qui favorisent l'éclosion du paludisme sont les mêmes que celles qui sont nécessaires au développement de la plupart des espèces végétales et animales inférieures; aussi depuis longtemps soupçonnait-on la nature parasitaire du paludisme.

Lancisi et Rasori supposaient déjà que le paludisme était produit par des animalcules en suspension dans l'air.

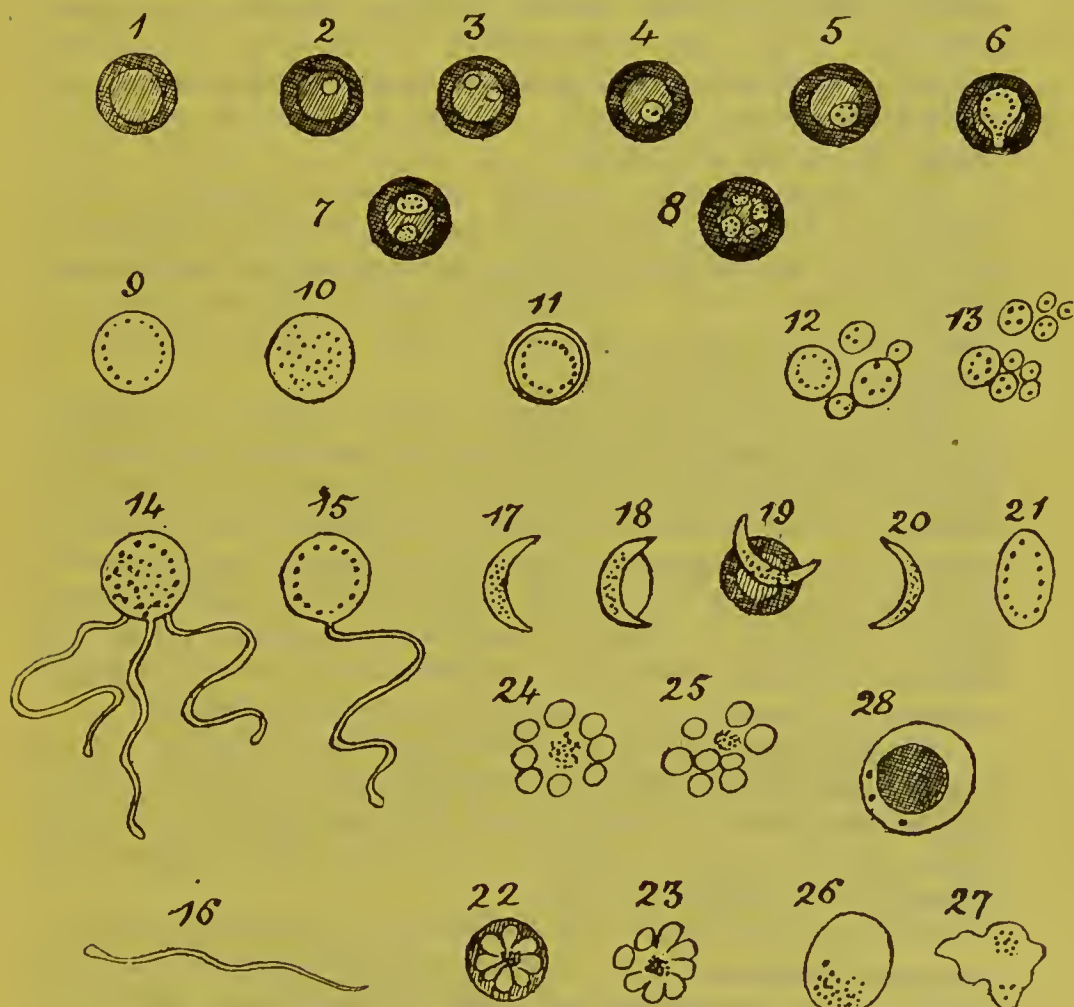
A plusieurs reprises on eût avoir découvert dans l'air, dans l'eau ou dans le sol des localités marécageuses le parasite du paludisme. Les

plus connus parmi ces prétendus parasites du paludisme, ceux qui ont eu la plus grande vogue, sont assurément les palmelles décrites par Salisbury en 1866 et le *Bacillus malarie* de Klebs et Tommasi- Crudeli. En 1882 un grand nombre d'observateurs en Italie et en Allemagne croyaient à l'existence du *Bacillus malarie*.

Mes recherches commencées en Algérie à la fin de l'année 1878 me conduisirent à des résultats tout différents, et en 1880 je donnais la première description d'un nouveau parasite du sang qui appartenait, non à la classe des schizophytes, mais à celle des sporozoaires et qui me paraissait être l'agent pathogène du paludisme.

Les caractères morphologiques de l'hématozoaire du paludisme sont aujourd'hui bien connus, je me contenterai de rappeler brièvement les principales formes sous lesquelles il se présente. Ces formes ont été reproduites dans la figure ei-jointe (Figure I.).

Fig. I.

HÉMATOZAIRES DU PALUDISME. ($\times 1,600$).

- 1, Hématie normale.—2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, Petits corps sphériques adhérents à des hématies.—9, 10, Grands corps sphériques libres.—11, Corps sphérique à double contour.—12, 13, Petits corps sphériques libres.—14, 15, Corps sphériques avec flagella.—16, Flagellum libre.—17, 18, 19, 20, Corps en croissant.—21, Corps ovales.—22, 23, 24, 25, Corps segmentés.—26, 27, Corps sphérique (forme cadavérique).—28, Leucocyte mélanifère.

1°. *Corps sphériques*. Ces éléments sont ceux qu'on rencontre le plus fréquemment dans le sang palustre ; ils mesurent de 1 μ . à 8 ou 10 μ . de diamètre ; ils renferment, sauf à leur premier degré de développement, des grains de pigment noirâtre et ils sont animés parfois de mouvements amiboïdes. Ces éléments sont à l'état de liberté dans le plasma ou bien ils adhèrent à des hématies qui pâlisent à mesure que grandissent les parasites.

2°. *Flagella*. Sur les bords des corps sphériques arrivés à leur développement complet on aperçoit quelquefois dans le sang frais, des filaments mobiles ou *flagella* en nombre variable, animés de mouvements très vifs et très variés ; ces *flagella* finissent par se détacher des corps sphériques d'où ils sortent et devenus libres ils se perdent au milieu des globules du sang.

3°. *Corps en croissant*. Ces éléments cylindriques, incurvés plus ou moins en forme de croissant, effilés ou arrondis aux extrémités, mesurent de 8 à 9 μ . de long ; vers la partie moyenne on distingue toujours une tache noirâtre formée par des grains de pigment ; les corps en croissant peuvent prendre la forme ovale ou la forme sphérique, on réussit quelquefois à suivre ces transformations au microscope, bien qu'elles se fassent lentement et ne soient pas comparables aux mouvements amiboïdes des corps sphériques. Une ligne fine réunit souvent les extrémités des corps en croissant.

4°. *Corps segmentés ou en rosace*. On observe quelquefois dans le sang palustre, en même temps que les corps sphériques précédemment décrits, des corps sphériques régulièrement segmentés avec un petit anneau de pigment noir au centre. Les segments qui sont d'abord disposés en rosace autour du pigment prennent bientôt la forme sphérique, se désagrègent et deviennent libres.

Enfin on constate dans le sang des malades atteints de paludisme des *leucocytes mélanifères*. La mélanémie, si prononcée chez les sujets qui succombent à des accès pernicieux, avait attiré depuis longtemps l'attention des observateurs ; mais on ne s'expliquait pas comment et pourquoi il y avait formation de pigment dans le sang des malades atteints de fièvre palustre et non dans le sang des malades atteints d'autres fièvres. L'existence d'éléments parasitaires pigmentés, propres au paludisme, a fourni la solution de ce problème, les leucocytes s'emparent des parasites pigmentés et c'est ainsi qu'ils deviennent mélanifères.

Les *flagella* ne peuvent être étudiés que dans le sang frais ; il est du moins très difficile de les colorer et par suite de les mettre en évidence dans des préparations de sang conservé ; les corps sphériques, les corps segmentés et les corps en croissant se voient bien sur des préparations obtenues par les procédés suivants.

La dessiccation rapide et la fixation par la chaleur des éléments normaux et parasitaires est un excellent moyen de conservation du sang palustre. Une goutte de sang est étalée en couche mince entre deux lamelles couvre-objet bien propres, les lamelles sont ensuite séparées, séchées rapidement à l'air, puis passées trois fois dans la flamme d'une lampe à alcool. La chaleur qui altère profondément les hématies, quand on chauffe du sang liquide au dessus de 56°, fixe, au contraire, très

exactement ces éléments dans leur forme lorsque le sang est déjà desséché en partie avant d'être chauffé.

Le sang desséché se conserve longtemps ; on distingue très bien sur les préparations du sang palustre simplement desséché quelques uns des éléments parasitaires décrits plus haut, notamment les corps en croissant qui conservent l'aspect qu'ils ont dans le sang frais.

Il faut avoir soin de monter ces préparations à *sec*, le baume du Canada rendrait les hématies et les éléments parasitaires beaucoup trop transparents. La lamelle couvre-objet à laquelle adhère le sang desséché est simplement appliquée sur une lame porte-objet ; on borde à la paraffine afin d'empêcher l'humidité et les poussières de pénétrer entre les lamelles.

Le sang desséché peut être soumis à l'action des différents réactifs colorants ; il est bon, pour achever de fixer les hématies dans leur forme, de faire agir sur le sang desséché un mélange d'alcool et d'éther à parties égales suivant le procédé de Roux.

Parmi les réactifs colorants le bleu de méthylène seul on associe à l'éosine et le violet de gentiane sont ceux qui donnent les meilleurs résultats.

Pour obtenir la coloration avec le bleu de méthylène on verse sur la lamelle recouverte de sang desséché et fixé comme il vient d'être dit, quelques gouttes d'une solution aqueuse concentrée de bleu de méthylène ; au bout de trente secondes on lave rapidement à l'eau distillée et on sèche la préparation qui est montée à *sec*. Les éléments parasitaires prennent une teinte d'un bleu plus pâle que les noyaux des leucocytes, les hématies conservent leur couleur normale.

En faisant agir sur le sang une solution aqueuse d'éosine avant d'employer la solution de bleu de méthylène on obtient une double coloration : les hématies sont colorées en rose, les éléments parasitaires et les noyaux des leucocytes en bleu ; ces préparations peuvent être montées à *sec* ou dans le baume, les éléments normaux ou pathologiques qui tous sont colorés restent visibles dans le baume.

J'ai obtenu de meilleurs résultats en faisant agir successivement l'éosine et le bleu de méthylène qu'en me servant du mélange de bleu de méthylène et d'éosine qui a été conseillé par Chenzinsky et par Hochsinger.

Pour l'étude des corps sphériques de petit volume qui adhèrent à des hématies ou qui sont inclus dans ces éléments, comme le pensent plusieurs observateurs, le violet de gentiane et le violet dahlia donnent aussi de bons résultats ; mais sur ces préparations on distingue mal le pigment des hématozoaires ce qui est un inconvénient ; les grains de pigment se voient bien, au contraire, sur les préparations colorées au moyen du bleu de méthylène.

L'examen du sang doit être fait pendant les accès de fièvre et autant que possible au début de ces accès. Dans l'intervalle des accès il arrive souvent que les hématozoaires disparaissent du sang périphérique, surtout si les malades sont soumis à la médication quinquina, les corps en croissant disparaissent plus difficilement que les corps sphériques.

L'hématozoaire du paludisme a été retrouvé par un grand nombre d'observateurs de tous les pays :

Sternberg, Councilman, W. Osler, James, G. Dock en Amérique.

E. Richard et Soulié en Algérie.

Marchiafava, Celli, Golgi, Guarnieri, Pietro Canalis, Grassi, Feletti, Antolisei, Angelini, Terni, Giardina, Bignami, di Mattei, Bastianelli en Italie.

Vandyke Carter et Evans aux Indes.

Metchnikoff, Sacharof, Khenzinsky, Romanowsky en Russie.

Paltauf, Kahler, Bamberger, Hochsinger en Autriche.

Plehn et Quincke en Allemagne.

Enrique Morado et E. Coronado à Cuba.

Je ne puis pas, bien entendu analyser ici tous les travaux qui ont été publiés sur la question, je devrai me borner à signaler les faits et les théories qui me paraissent présenter le plus d'intérêt.

Plusieurs observateurs parmi lesquels je citerai Grassi et Feletti, Celli, Romanowsky, Sacharof ont signalé l'existence de noyaux dans l'intérieur des corps sphériques et aussi dans les corps en croissant. Ces noyaux sont pour le moins très difficiles à mettre en évidence et je ne connais pas encore de méthode sûre pour leur coloration.

Golgi qui a attiré avec raison l'attention sur les corps segmentés et sur le rôle qu'ils paraissent jouer dans la reproduction de l'hématozoaire du paludisme, a eu remarquer que la segmentation se faisait d'une manière différente dans la tierce et dans la quarte, et il est parti de là pour décrire deux variétés de parasites du paludisme : l'hématozoaire de la tierce et l'hématozoaire de la quarte ; dans la tierce le nombre des segments des corps en rosace serait deux fois plus grand que dans la quarte.

Plus tard Golgi et Pietro Canalis ont admis une troisième variété d'hématozoaires pour les fièvres irrégulières, variété qui serait caractérisée par les corps en croissant ; Antolisei, Angelini, Terni et Giardina ont défendu la même opinion.

D'après Grassi et Feletti il faudrait admettre deux espèces de parasites du paludisme : l'hématozoaire des fièvres régulières, et l'hématozoaire des fièvres irrégulières, ce dernier caractérisé surtout par les corps en croissant.

L'existence d'un seul parasite, polymorphe à l'exemple d'un grand nombre de sporozoaires, m'a toujours paru et me paraît encore très probable.

L'unité du paludisme est indiscutable au point de vue clinique ; la fièvre palustre change souvent de type chez un même malade et de régulière se transforme en irrégulière ou réciproquement ; d'autre part les caractères différentiels assignés aux deux ou trois variétés d'hématozoaires du paludisme sont insuffisants pour permettre de reconnaître ces variétés aux différentes phases de leur évolution ; enfin les faits sont souvent désaccord avec les règles sur lesquelles repose la théorie de la pluralité des hématozoaires du paludisme, c'est ainsi que j'ai rencontré des corps

en croissant chez des sujets atteints de fièvre intermittente parfaitement régulière : quotidienne, tierce ou quarte.*

Le paludisme étant produit par un parasite du sang, on devait pouvoir l'inoculer à des individus qui en étaient indemnes en leur injectant dans les veines un peu de sang palustre renfermant des hématozoaires. Dès 1881 j'avais indiqué les conditions de réussite de cette expérience qui a été faite avec succès par Mariotti et Ciarocchi, Marchiafava et Celli, et par Gualdi, Antolisei et Angelini. Les recherches antérieures de Doehmann et de Gehrhardt, n'étaient pas probantes.

L'inoculation intra-veineuse réussit presque toujours, et on voit apparaître dans le sang des individus inoculés les hématozoaires en même temps que se produisent les manifestations cliniques caractéristiques du paludisme.

Ces manifestations ont lieu huit à dix jours après l'inoculation, ce qui fournit une indication précise sur la durée d'incubation minima du paludisme, indication qui concorde avec bon nombre de faits d'observation.

L'inoculabilité du paludisme par injection intra-veineuse du sang renfermant l'hématozoaire est un puissant argument en faveur du rôle pathogène de ce parasite. Mais cette preuve n'acquiert toute sa valeur que quand on la rapproche des faits suivants :

1°. L'hématozoaire a été retrouvé chez les palustres de tous les pays avec les mêmes caractères.

2°. Jamais cet hématozoaire n'a été rencontré chez des individus indemnes de paludisme.

3°. Le développement de l'hématozoaire se lie intimement à la production de la mélanémie qui est la lésion anatomique caractéristique du paludisme.

4°. Les sels de quinine font disparaître du sang l'hématozoaire en même temps qu'ils guérissent la fièvre palustre.

L'existence chez différents animaux de parasites analogues à l'hématozoaire du paludisme est un fait extrêmement intéressant.

Gaule et Ray Lankester ont décrit un hématozoaire de la grenouille qui se montre dans les hématies sous l'aspect d'un corps allongé à côté du noyau ou bien à l'état libre, dans le plasma, et qui présente alors des mouvements assez vifs, c'est le *Drepanidium ranarum*.

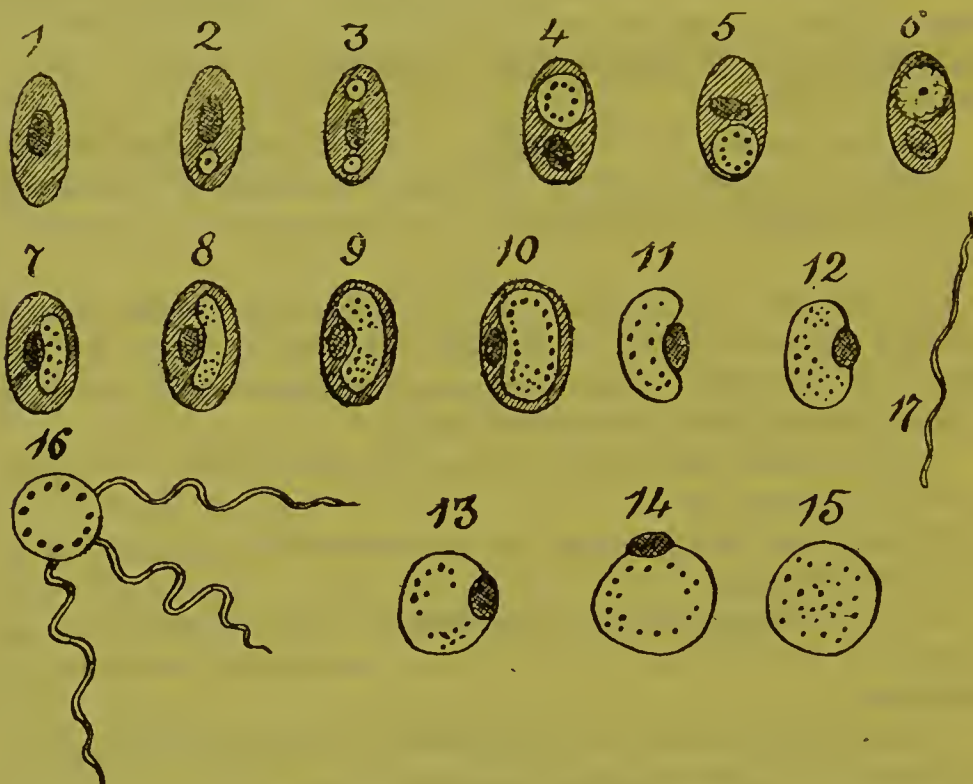
On trouve fréquemment dans le sang du lézard et dans le sang de la tortue des marais, des parasites libres ou inclus dans les hématies. Ces parasites qui ont été décrits en 1884 par Danilewsky se présentent d'abord sous l'aspect de petites taches claires, arrondies ou oblongues, à côté du noyau de l'hématie malade, puis sous la forme d'un vermicule cylindrique effilé à ses extrémités qui, arrivé à son développement complet, devient mobile et s'échappe de l'hématie.

* Laveran. *Du Paludisme et de son Hématozoaire*, Paris 1891, chez Masson.
— Je renvoie également à ce volume pour la bibliographie qui est trop étendue pour être reproduite ici.

Certains hématozoaires des oiseaux dont nous devons également la connaissance à Danilewsky se rapprochent plus encore de l'hématozoaire du paludisme. Ces hématozoaires ont été trouvés dans le sang d'un grand nombre d'oiseaux : geai, hibou, corneille, pigeon, tourterelle, alouette, pinson, moineau ; je les ai rencontrés fréquemment, pour ma part, dans le sang de geais, d'alouettes et de pinsons achetés à Paris.

Ces parasites sont le plus souvent inclus dans les hématies (Figure II.). L'hématozoaire forme d'abord une tache claire dans les

Fig. II.

HÉMATOZAIRES DE L'ALOUETTE. ($\times 1,000$.)

- 1, Hématie normale.—2, Hématie avec un corpuscule sphérique.—3, Hématie avec deux corpuscules sphériques.—4, 5, Hématies avec des corps sphériques qui ont repulé le noyau.—6, Hématie avec un corps sphérique en voie de segmentation.—7, 8, 9, 10, Hématies avec des éléments allongés à divers degrés de leur développement.—11, 12, Corps sphériques auxquels adhèrent encore les noyaux des hématies.—13, 14, 15, Corps sphérique libre.—16, Corps sphérique avec trois flagella.—17, Flagellum libre.

hématies, normales d'ailleurs, et se présente sous l'aspect d'un petit élément sphérique mesurant à peine un μ . et renfermant un grain de pigment. Ces petits corps sphériques grossissent et les grains de pigment se multiplient à l'intérieur. L'hématozoaire en se développant déforme plus ou moins l'hématie qui le renferme et refoule le noyau. Souvent l'hématozoaire prend une forme allongée, il a alors l'aspect d'un vermicule dont les extrémités se replient autour du noyau. Chez l'alouette j'ai constaté quelquefois la disparition du noyau dans les hématies malades mais, en règle générale, le noyau est la partie de l'hématie qui résiste le plus longtemps ; on retrouve souvent le noyau à côté des éléments parasites alors que ces éléments, arrivés à leur

complet développement, sont devenus libres. L'hématozoaire devenu libre par la destruction de l'hématie qui le renfermait, a une forme allongée d'abord, puis sphérique, avec des grains pigmentés à l'intérieur; dans le sang du pinson les corps allongés se divisent souvent en donnant naissance à deux corps sphériques.

Les grains pigmentés des corps sphériques sont animés parfois d'un mouvement très vif et les corps sphériques présentent des mouvements oscillatoires rapides ou de rotation sur eux-mêmes, en même temps qu'apparaissent sur leurs bords des *flagella* qui ont la plus grande ressemblance avec les *flagella* du sang palustre; ces *flagella* deviennent libres au bout de quelques minutes et se perdent au milieu des hématies.

Danilewsky a signalé la présence de corps en rosace ou segmentés dans le sang de certains oiseaux. Ces éléments sont au moins très rares, je les ai souvent cherchés vainement jusque dans la moelle osseuse qui serait d'après Danilewsky leur siège d'élection. On trouve dans la rate des oiseaux atteints de cette maladie parasitaire une accumulation d'éléments pigmentés qui rappelle entièrement l'aspect de la rate des individus morts d'accès pernicieux.

L'analogie avec l'hématozoaire du paludisme est évidente, mais je ne crois pas qu'on puisse admettre avec quelques observateurs, que ces parasites des oiseaux sont les mêmes que ceux qui donnent naissance chez l'homme aux accès du paludisme.

Au point de vue morphologique il existe de notables différences. Les corps allongés, vermiculaires qui se développent dans les hématies des oiseaux en se repliant autour du noyau, ne peuvent pas être assimilés aux corps en croissant du sang palustre. J'ai vu dans le sang du pinson ces éléments allongés, renflés à leurs extrémités s'étrangler vers la partie moyenne et donner naissance à deux corps sphériques, fait absolument inconnu dans l'histoire des corps en croissant du sang palustre. La constitution différente du sang d'oiseau et du sang humain pourrait, il est vrai, expliquer certaines différences morphologiques, mais d'autres faits témoignent de la non identité de ces parasites.

1°. Les hématozoaires décrits plus haut se rencontrent chez des oiseaux provenant de régions non palustres et souvent ils ne donnent naissance chez les animaux qui en sont porteurs, à aucun trouble apparent.

2°. Si les hématozoaires des oiseaux étaient identiques à l'hématozoaire du paludisme, on devrait réussir à inoculer ce dernier parasite aux oiseaux en leur injectant dans les veines du sang palustre; or, jusqu'ici, les expériences faites dans ce sens n'ont donné que des résultats négatifs.

En 1889 et 1890 j'ai injecté à plusieurs reprises dans les vaisseaux du geai, du sang palustre renfermant des hématozoaires, et le résultat de ces expériences a été négatif.

Celli et Sanfelice ont inoculé sans succès du sang palustre à différents oiseaux: pigeons, tourterelles, chouettes.* Ces observateurs n'ont réussi à inoculer les hématozoaires que lorsqu'ils opéraient sur des animaux de même espèce, de pigeon à pigeon, par exemple, ou d'alouette à alouette.

* Sui parassiti del globulo rosso nell' uomo e negli animali. Rome, 1891.
i p. 2532.

J'ai réussi comme Celli et Sanfelice à inoculer l'hématozoaire de l'alouette à l'alouette ; les animaux inoculés meurent quelquefois rapidement et on constate chez eux, en même temps que la pullulation des hématozoaires, une anémie profonde.

Les inoculations d'alouette à pigeon ne m'ont donné que des résultats négatifs.

Il ne paraît pas prudent d'injecter dans les veines de l'homme du sang d'oiseau ; cependant di Mattei a pratiqué une fois cette expérience ; il a injecté dans la veine basilique d'un individu sain un centimètre cube de sang provenant d'un pigeon infecté, le résultat a été négatif.*

3°. D'après Celli, Sanfelice et di Mattei la quinine si active contre l'hématozoaire du paludisme serait sans action sur les hématozoaires des animaux.

Les hématozoaires des oiseaux appartiennent d'ailleurs à plusieurs espèces, et il est possible que certains oiseaux soient susceptibles de servir d'hôtes au parasite du paludisme.

Malgré les recherches entreprises depuis dix ans nous ne savons pas encore sous quelle forme l'hématozoaire du paludisme se trouve dans le milieu extérieur, ni comment il pénètre dans l'économie ; cela n'a d'ailleurs rien de surprenant étant donné qu'il s'agit d'un sporozoaire ; nous ne sommes pas mieux renseignés sur les conditions de propagation de la plupart des autres sporozoaires.

C'est à élucider cette question qu'on doit s'appliquer maintenant.

Au lieu de chercher directement, comme on l'a fait si souvent en vain, dans l'air, dans l'eau, ou dans le sol des localités marécageuses le parasite du paludisme, il faut partir de ce fait que ce parasite est un sporozoaire analogue aux hématozoaires qui existent chez différents animaux et instituer des expériences pour étudier le mode de propagation de ces sporozoaires.

CONCLUSIONS.

1°. Après les nombreux travaux de contrôle qui ont été publiés depuis dix ans on peut admettre comme démontré que l'hématozoaire décrit par moi est l'agent pathogène du paludisme.

2°. Cet hématozoaire qui appartient à la classe des sporozoaires est vraisemblablement unique, mais polymorphe.

3°. On trouve chez différents animaux et notamment chez les oiseaux, des hématozoaires qui ont une grande analogie avec l'hématozoaire du paludisme.

4°. C'est en étudiant ces hématozoaires des animaux qu'on a le plus de chances de découvrir sous quelle forme l'hématozoaire du paludisme se trouve dans le milieu extérieur et comment il pénètre dans l'économie.



DISCUSSION.

Professor Crookshank congratulated M. Laveran upon his brilliant paper and demonstration. It was a striking example of the value of International Congresses when investigators from different countries

* *Riforma Medica*, 30 Mai 1891.

could meet together to hear an account of such a discovery from the lips of the discoverer. Five years ago Professor Crookshank studied the organisms in malaria in the laboratories in Rome and Pavia, and the question was whether they were pathological products of the red blood corpuscles or blood parasites. The evidence pointed to their being animal parasites, and Professor Crookshank thought that they ought to be studied in the light of our knowledge of the hæmatozoa of fish, birds, equines, and rats. There was evidence also in favour of the organisms being regarded as the cause of malaria, but this relation was not proved, and allied organisms were found in healthy as well as in diseased animals. The presence of these organisms in man was, however, evidence of the existence of malaria, and their detection was therefore invaluable as a diagnostic sign.

Mr. W. North (London) remarked on the circumstance that most of the organisms described as occurring in malaria had been given up by their discoverers as the cause of the disease. The only reliable researches on the subject were those of Laveran, Celli, and their colleagues. Koch's conditions had, however, not yet been satisfied, the hæmatozoa had not been found either in air, soil, or water, and all the attempts made to produce the disease by injecting the water or extracts of the soil of malarious districts had invariably failed.

The mode of infection and the curiously local distribution of the disease presented to his mind great difficulties in the way of accepting a micro-organism as the cause,—difficulties which became, in his opinion, insuperable when an attempt was made to explain its marked periodicity, a character common in many other non-malarious disorders.

The relation of type to latitude, and the constant connexion between the disease and great variations in temperature, lent some justification to the belief that the diseases might be due to a disorder of the thermotaxic nervous mechanism induced by excessive strain. Experience showed that malaria was not acquired except after more or less prolonged exposure to the necessary conditions. The varying period of incubation (from days even to years) seemed to him another difficulty in accepting the micro-organismal origin of the disease. The present state of our knowledge was not by any means such as to justify our assuming the disease to be the result of the operation of a pathogenic organism, and much further research into its nature was necessary.

Surgeon-General Cook, M.D., F.R.C.P., thought that whatever view might be correct, the theory of chill just enunciated was altogether insufficient to account for malarial fever. He had had thirty years' experience of the disease in India, and he was convinced that it must be due to the reception into the system of some organism. There were many places in India and elsewhere where the contagium of malaria was so concentrated that it sufficed merely to pass through them to contract the fever. He had had experience of one valley in Beluchistan where this was the case, and where it could not for a moment be ascribed to chill, since no causes of chill prevailed there not to be found in other places free from the fever.

Mr. Ardaseer V. Cooper, M.R.C.S., D.P.H. (India), was opposed to the thermic theory propounded by Mr. North on the ground that districts lying side by side, exposed to the same climatic conditions, had often very different characters as regards malaria, some being healthy, others very unhealthy. The only difference between them was that the former had

been drained and cleared of forests, while the latter still remained in their native state. In both cases the same variations of heat and cold were present. Nor could he agree with Mr. North's further statement that it was necessary to lie on the ground in order to contract the disease. This was opposed to our experience, as the last speaker had just shown.

He thought there were valid reasons for believing that paludal maladies were due to a parasitic organism which most probably lived and developed in or on the soil, or in the air lying adjacent to the soil.

It was a fact well known that newly-ploughed land was frequently more dangerous than that lying fallow, and that low-lying districts were more unhealthy than mountainous regions. Again, periodic seasonal outbreaks, so far from pointing away from the parasitic nature of the disease as Mr. North supposed, pointed rather to it. Malarious diseases were most common in India during those seasons which were favourable to the growth of low forms of vegetable life.

The thermic theory had in truth nothing to support it. Certain districts where the variations of heat and cold were most marked were least malarious. This was the case with the central sandy plains of India where the days were burning hot, and the nights cold and chilly, and where, nevertheless, malaria was almost unknown.

Professor Hueppe (Prague) sagte: Die von Herrn North gegen die aetiologische Bedeutung geltend gemachten Einwände sind nicht haltbar. Es ist selbst bei grösseren Parasiten meist unmöglich alle Stadien ausserhalb zu finden in Boden oder Wasser. Ausserdem ist es denkbar dass ein Generationswechsel vorkommt, oder andere (saprophytische) Formen sich in Boden oder Wasser finden. Auf der anderen Seite finden sich alle die von Herrn Laveran entdeckten Formen nur bei Malaria, und hier in einer Form und Anordnung, welche *alle* klinischen Erscheinungen vollständig erklärt, und dies spricht zur Zeit entschieden für die Auffassungen von Herrn Laveran.

Dr. Laveran in reply said that Mr. North's objection fell to the ground, as we did not know how sporozoa lived outside the animal body. That was a question which had to be settled now, and it was one that could only be settled by experiments. We were only at the beginning of the truth.

Sur les Parasites du Globule rouge.

PAR

le Professeur Dr. ANGELO CELLI, Royal Institut d'Hygiène, Rome.

Ce fut en 1885, qu'après avoir trouvé de nouveaux faits et avoir donné une différente interprétation à ceux qui étaient le fruit des recherches de Frerichs, de Kelsch et surtout de M. Laveran, M. Marchiafava et moi, nous établîmes la théorie du parasitisme endoglobulaire de la malaria. Il nous fallut alors, qu'on ne croyait qu'aux² bactéries

pathogènes, chercher des exemples d'analogie parmi les maladies des végétaux chez qui le parasitisme endocellulaire fut premièrement découvert.

Mais peu de temps après Danilewsky nous fournissait, dans le règne animal des matériaux pour des analogies plus intimes.

Depuis lors de nouveaux faits de parasitisme du globule rouge des animaux furent ajoutés par le même auteur et par Chalaschnikoff, par Grassi et Felletti, par Kruse et par L. Pfeiffer.

D'autre part, l'étude du sang malarique, nous amenait, en Italie, à établir plusieurs formes parasitaires, correspondantes aux principaux types d'infection et en rapport avec les diverses saisons et avec les diverses localités d'endémie. Par exemple, dans les zones de malaria légère et dans notre zone de malaria grave pendant l'hiver et le printemps prédominent des formes parasitaires grandes, ayant un cycle de développement lent, que Golgi, le premier, avait différenciées, en distinguant par les caractères morphologiques et biologiques, les formes de la fièvre tierce bénigne, de celles de la fièvre quarte. Tandis que dans les zones de malaria grave, même dans les tropicales, et chez nous, pendant l'été et l'automne, nous avons démontré que prédominent deux formes parasitaires plus petites, à développement plus rapide, l'une qui engendre la fièvre vraiment quotidienne, l'autre la fièvre tierce grave : de chacune d'elles dérivent les fièvres subintrantes, subcontinues, pernicieuses.

De ces formes principales (peut-être essentiellement uniques), on étudiait avec soin non seulement la vie endoglobulaire jusqu'à la sporulation, mais aussi la vie libre dans le plasma jusqu'à la dégénérescence. Par exemple comme formes agoniques, on désignait les formes flagellées que Laveran dans l'infection malarique et Danilewsky chez les oiseaux croyaient les formes les plus complètes de développement, considérant les flagella comme les parasites parfaits.

Avec ces connaissances du parasite endoglobulaire de la malaria, mon aide M. Sanfelice et moi, nous avons entrepris une étude de *parasitologie comparée du globule rouge*.

En laissant les détails à la démonstration, je voudrai maintenant donner une idée synthétique de ce groupe de parasites endoglobulaires. Je dirai d'abord que chez les amphibiens et chez les reptiles on a une forme parasitaire unique avec deux phases de vie bien distinctes, l'une endoglobulaire, l'autre libre dans le plasma. Chez les oiseaux, au contraire, on a une, deux, et dans le même animal, jusqu'à trois formes, correspondantes à trois de formes parasitaires du globule rouge chez l'homme.

Et bien plusieurs analogies et différences morphologiques et biologiques existent entre tous ces parasites du globule rouge de l'homme et des animaux. On peut en quelques mots les résumer de la manière suivante :—

1°. *Forme*.—La forme des parasites est en rapport avec leur mouvement et en général même avec la forme et la structure du globule rouge où ils se développent.

Chez l'homme le mouvement amiboïde est vivace dans tous les parasites jeunes, plus ou moins vivace chez ceux qui sont en voie de

développement, avant la sporulation, c'est à dire, d'autant plus vivace que le parasite est plus petit et son développement plus rapide. Dans ce dernier sens il est plus vivace dans la forme tierce que dans la forme quarte. Les parasites à l'état de repos, comme aussi ceux qui sont en voie de sporulation, et souvent même ceux qui sont en voie de dégénérescence, ont la forme ronde.

Les parasites à développement graduel progressif, pendant toute la durée de la vie endoglobulaire, se modifient d'après la forme du globule rouge. Chez les oiseaux les parasites, ceux-même dont le développement est rapide, n'ont pas le mouvement amiboïde : on en trouve comme une trace dans les prolongements ou pseudopodes qu'émettent les parasites à cycle lent. Ceux-ci s'allongent par activité vitale, et deviennent ronds dès qu'elle cesse. Ces parasites croissent et se modifient aussi d'après la forme du globule rouge latéralement ou autour du noyau. Les parasites à l'état de repos ont la forme ronde. Chez les animaux à sang froid on trouve le mouvement amiboïde lent dans une courte phase endoglobulaire qui précède la sporulation et le mouvement vermiculaire dans les parasites extraglobulaires. La forme allongée prédomine largement sur toute autre, et ne devient ronde que pendant la courte phase où s'achève avec la sporulation. Ce sont les parasites des reptiles et surtout ceux des batraciens qui ne se plasment pas entièrement sur la forme du globule rouge, ils restent toujours plus petits et se replient en crochet sur eux-mêmes et non autour du noyau comme chez les oiseaux.

2°. *Structure*.—Dans tous les parasites endoglobulaires, on a un ectoplasme plus colorable, un entoplasme moins colorable : dans ce dernier se trouve un noyau ayant souvent des nucléoles ou un réticule nucléaire. On peut aussi considérer tout l'entoplasme comme partie constituante du noyau et celui-ci comme vésiculeux. Toutefois dans l'homme et dans les oiseaux cette structure est mise en évidence par les colorations (par exemple dans les préparations à frais avec le bleu de méthylène, dissous dans un liquide hydroscitique) ; sans colorations dans les préparations à frais elle est souvent visible dans les formes en voie de dégénérescence : c'est seulement chez les reptiles et rarement chez les batraciens qu'elle est visible dans les préparations fraîches même dans les formes jeunes en voie de développement endoglobulaire.

Chez l'homme on ne trouve quelquefois des granulations protoplasmiques colorables de l'ectoplasme que dans les formes dégénératives. On commence à les distinguer, bien qu'elles soient rares dans les parasites à développement lent de la *Columba livia*, elles croissent dans certains oiseaux (*Strix flammea*, etc.), et on en trouve plusieurs chez les batraciens, tandis qu'elles sont très nombreuses chez quelques reptiles (*restudo Europæa*) dans lesquels tout le protoplasme des parasites autour du noyau est granuleux. En outre des granulations protoplasmiques on peut avoir des granulations hémoglobiniques ou noires par réduction de l'hémoglobine. Celles-ci nous amènent à considérer de plus près les—

3°. *Rapports avec le globule rouge*.—Les parasites de l'homme et des oiseaux ont une vie intime parasitaire endoglobulaire : à savoir ils

se nourrissent aux dépens de l'hémoglobine qu'ils transforment en mélanine, d'où la mélanémie et la destruction du globule rouge.

Chez quelques oiseaux, les granules de mélanine ne sont pas tout à fait noirs, mais bruns ; chez d'autres ils sont rares et interposés avec les granules protoplasmiques.

Chez l'homme et chez les oiseaux les décolorations précoces et le rétrécissement avec changement en couleur vieux cuivre constituent aussi d'autres modes de destruction du globule rouge. Dans les animaux à sang froid les granules noirs manquent complètement, l'hémoglobine se conserve ordinairement intacte. La vie endoglobulaire n'est plus intime mais elle est symbiotique. En outre chez l'homme et chez les oiseaux, plus les parasites ont le développement lent et la sporulation tardive, plus ils envahissent le globule rouge jusqu'à en égaler la grandeur. Chez les oiseaux pourtant, les formes mêmes à développement lent, si elles sont uniques, envahissent rarement tout le globule rouge. Chez les animaux à sang froid et plus spécialement chez les batraciens, les parasites quoiqu'ayant un développement lent, n'arrivent jamais à envahir tout le globule rouge (leur dimension restant toujours inférieure).

4°. *Cycle de développement.*—Dans chaque classe d'animaux on a plusieurs types de rapidité de développement.

Chez l'homme le cycle de développement peut s'achever : (A) dans l'espace d'un jour comme dans les fièvres estivo-automnales, et même très vite, c'est à dire sans formation de pigment comme dans quelques fièvres pernicieuses d'été ; (B) en deux jours, comme dans les fièvres tierces et relativement plus tôt comme dans le type tierce anticipant, ou plus tard, comme dans le type tierce posticipant ; (C) en trois jours, comme dans la fièvre quarte.

Par analogie, chez les oiseaux, on a un cycle de développement rapide, accéléré, lent. Toutefois chacun de ces cycles, par rapport à l'homme, est plus retardé, p. ex. le cycle lent qui correspond à celui de la fièvre quarte dure au moins 7-8 jours ; le cycle très rapide ou sans formation de pigment manque absolument. Chez les animaux à sang froid le cycle de développement est si lent, qu'il peut durer des mois, mais quelquefois il est moins lent, et la sporulation est relativement précoce.

5°. *Reproduction.*—Elle se vérifie chez tous ces parasites par gymnosporie sans enkystement précédent. La sporulation est le terme physiologique de la phase de la vie endoglobulaire. En dehors de la sporulation nous ne connaissons pas, avec certitude, d'autres modes de reproduction. Le terrain pour la culture des parasites endocellulaires n'a pas encore été trouvé.

6°. *Vie libre dans le plasma.*—C'est la vie des formes parasitaires qui s'arrêtant dans leur développement sortent du globule rouge et de celles qui après être arrivées à leur complet développement, ne parviennent pas à sporuler. Chez l'homme les parasites (excepté leurs spores) dégénèrent, dès qu'ils sont libres dans le plasma, et dès qu'il n'y a plus autour d'eux aucune couche de globule rouge ; le mouvement très actif des granules, l'émission de masses ou de flagella

sont des signes de dégénérescence ainsi que l'hydrops et les vacuolisations. On voit aussi les corps en croissant de Laveran, résister dans le plasma tant qu'ils ont une enveloppe hémoglobinique. Mais ils n'ont aucun mouvement, et c'est seulement, en dégénérant, qu'ils se déforment dans leur contour. Ils présentent très rarement de noyau dans les préparations fraîches et même avec la coloration susdite il n'est pas facile de le distinguer.

Dans les oiseaux, les parasites libres dans le plasma continuent à y vivre un peu plus longtemps ; ils se conservent allongés encore pendant un certain temps, mais ils finissent par devenir ronds et par dégénérer. Quelquefois tandis qu'ils sont encore allongés ils présentent même des rétrécissements transversaux, indice d'un mouvement vermiculaire : ils montrent constamment le noyau après la coloration, et souvent même dans les préparations fraîches.

Chez les animaux à sang froid, les parasites, dans la phase de vie libre dans le plasma sont tellement florissants qu'on les a considérés comme des êtres complets (*Depranidium*). En effet n'ayant pas besoin de se nourrir d'hémoglobine, ils vivent même dans le plasma, ils y croissent, ils ont le mouvement vermiculaire et même dans les préparations fraîches ils présentent le noyau.

7°. *Action parasitaire*.—Comme cela a lieu dans chaque classe d'animaux de même en descendant de l'homme jusqu'aux vertébrés inférieurs, l'action parasitaire diminue, à mesure que la rapidité de développement diminue ainsi que le pouvoir de reproduction ; tandis que les dimensions du parasite augmentent. Ainsi on va des formes de la fièvre pernicieuse, subcontinue, subintrante à celles de la fièvre quotidienne vraie, et de celles-ci on descend aux formes des fièvres tierces, et de ces dernières à la forme de la fièvre quarte.

Les oiseaux peuvent bien vivre avec les parasites à cycle lent, ils ne vivent pas longtemps avec les parasites à cycle accéléré, et ils meurent rapidement sous l'action de nombreux parasites à cycle rapide.

Chez les animaux à sang froid, l'action parasitaire est apparemment nulle. Jusqu'ici on explique difficilement le mécanisme de cette action : nous en connaissons à peine quelques éléments, tels que la destruction de globules rouges, les stades parasitaires et les globules plasmodiophores. Nous avons aussi des notions très bornées sur les altérations produites dans les vaisseaux et dans les tissus par cette invasion parasitaire dans le sang. Dans les vaisseaux on connaît les altérations des endothéliums (pigmentation, dégénérescence, nécrose) qui les font détacher des parois et entrer en circulation. Dans les tissus prévalent les modifications dégénératives ou les nécroses, comme on le constate p. ex. dans les reins, le foie et en certains cas dans l'intestin même comme cela se vérifie dans la fièvre pernicieuse cholérique. Aux altérations des vaisseaux se rapportent les hémorragies qui quelquefois ont lieu dans les muqueuses, plus souvent dans le cerveau, qui dans la fièvre pernicieuse comateuse peut être semé d'hémorragies punctiformes. Comme les bactéries pathogènes de même les parasites du globule rouge peuvent-ils produire aussi des substances toxiques ? On ne saurait y répondre avec certitude. Nous

savons toutefois que l'intensité de la fièvre souvent n'est pas en relation avec le nombre de globules rouges qu'on voit envahis par les parasites au début de la fièvre. On observe aussi quelquefois des élévations de température à peine notables avec un report parasitaire relativement abondant. Nous avons aussi décrit des cas de fièvres pernicieuses comateuses suivies de mort, malgré la diminution progressive des parasites obtenue au moyen de la quinine.

Il n'est donc pas improbable que par les parasites eux-mêmes ou par les produits de la destruction des globules rouges, il se forme quelque malaritoxine; d'autant plus que même l'élévation de la température et éventuellement le frisson ne dépendent pas purement et simplement du fait ni des globules rouges envahis par les parasites, ni de leur sporulation, cela ayant lieu aussi pendant l'apyrexie, et celle-ci précédant mêmes de quelques heures l'éruption de l'accès.

Analoguement chez les animaux, on n'observe pas d'ordinaire une élévation de température anormale, quelle que soit le nombre des globules envahis, et quelle que soit l'activité de la sporulation.

8°. *Transmissibilité des parasites au moyen des inoculations du sang qui en contient.* Jusqu'à présent il semble qu'elle réussit seulement d'individu à individu de la même variété, de la même espèce; elle ne réussit pas même de variété à variété de la même espèce susceptible d'infection.

Dans ces conditions il faut quand même noter, que tandis que d'homme à homme l'inoculation a toujours réussi, elle ne réussit pas toujours, d'oiseau à oiseau, quoique de la même espèce et variété susceptible d'infection et de grenouille à grenouille, de tortue à tortue il n'est pas encore démontré qu'elle puisse réussir.

9°. *Parasiticides spécifiques.*—Chez l'homme la quinine donnée avant l'accès fébrile (formes quartes, formes tierces) n'entrave pas le développement des parasites jusqu'à la sporulation. Celle-ci a lieu également et par conséquent on a l'accès quelquefois même élevé; on n'a cependant pas l'accès successif. Analoguement chez les oiseaux, la quinine n'arrête pas les nouvelles générations des parasites, ni la durée régulière de leur cycle.

Chez l'homme la quinine paralyse souvent le mouvement amiboïde des parasites. Ainsi chez les oiseaux, elle fait devenir rondes les formes allongées. Cependant elle n'exerce plus une action délétère comme chez l'homme, puisqu'elle ne réussit pas à débarrasser le sang des parasites.

10°. *Immunité.*—Les tentatives pour produire l'immunité artificielle chez l'homme et chez les animaux n'ont pas jusqu'ici réussi. Nous connaissons cependant des exemples d'immunité naturelle chez l'homme (p. ex. dans la race nègre, et dans les Tamils de la côte de Coromandel), et chez les animaux, (p. ex. chez les reptiles de la campagne romaine où nous n'avons jamais trouvé des hémoparasites, tandis que ceux des Lagunes vénitiques et de la Maremma toscane en sont si souvent infectés). Chez les races humaines l'immunité n'est cependant pas absolue mais relative, elle se manifeste c'est à dire, plus spécialement comme une force de résistance contre les infections graves. Etant donnée une

raee ou variété susceptible d'infection la résistance individuelle chez l'homme est nulle ou presque nulle ; elle est au contraire grande chez les animaux, puisqu'on a toujours parmi eux, dans la même localité un certain nombre qui jouit de l'immunité, laquelle persiste même après des inoculations réitérées de sang contenant des parasites.

Toutes ces différences qui existent entre les parasites du globule rouge non seulement entre les diverses classes, mais aussi dans une même classe d'animaux ne nous permettent même pas d'identifier les parasites des oiseaux avec ceux de l'homme, comme le voudrait Danilewsky.

Cependant, ainsi que nous venons de la voir, les analogies sont tellement nombreuses qu'on peut avec raison faire un groupe unique de tous les parasites endoglobulaires des divers animaux.

Ce groupe à l'état actuel de nos connaissances et selon presque tous les auteurs (Metchnikoff, Pfeiffer, Kruse, Danilewsky, Laveran) peut être assigné à la classe des sporozoaires. De ceux-ci, on sait que Bütschli a fait trois sous-classes, (*Gregarinida*, *Myxosporidia*, *Sarcosporidia*) à aucune desquelles on ne saurait précisément assigner nos parasites endoglobulaires. C'est pour cela que, Mingazzini a proposé de former pour eux une quatrième sous-classe. De cette sous-classe nous aurions jusqu'ici trois genres désignés par Kruse, l'un celui des batraciens et des reptiles par le nom de *Hæmogregarinida*, l'autre celui des oiseaux par le nom de *Hæmoproteus*, et le dernier celui de l'homme par le nom de *Plasmodium*.

Chaque genre a diverses espèces qu'on peut désigner selon le siège, c'est à dire selon l'animal dans lequel on les trouve. Chez certaines espèces d'oiseaux (p. e. chouette, alouette) ont a deux ou trois variétés. tandis que chez l'homme il y en a quatre, c'est à dire de la fièvre quotidienne, de la fièvre tierce grave, de la fièvre bénigne, de la fièvre quarte.

Quand même cette classification serait provisoire elle servirait toutefois à mettre à leur place les autres hœmoparasites qu'on trouvera ensuite. Vu qu'on peut croire que ce groupe de microorganismes endocellulaires avec le progrès des études ira toujours croissant et gagnera une importance toujours majeure dans la pathologie et dans l'hygiène.

Je ne saurai vouloir refaire tout l'historique de cette question. Ce n'est pas ici le lieu et ce la exigerait trop de temps, et d'ailleurs pour connaître la vérité il n'y a qu'à remonter aux sources, c'est à dire, aux publications originales.

Je ne veux donc que toucher brièvement les points principaux de divergence entre M. Laveran et nous, et pour cela j'emploierai les mêmes paroles d'un auteur français, M. Le Dr. Doulet, qui vient de faire récemment une étude critique assez impartiale sur l'étiologie du paludisme.* Je ferai ainsi comprendre, en même temps, quel est l'état actuel de nos connaissances sur la cause de la malaria :—

“Après avoir résumé ce qu'il appelle la théorie italienne, système Marchiafava-Celli, M. Doulet ajoute, que les idées de Laveran et celles de Marchiafava et Celli sont loin de concorder.

* Paris, Henri Jouve, 1891.

“Ce qu’elles ont de commun, c’est qu’elles portent sur des formes également vues de part et d’autre, savoir, formes libres dans le sérum primitivement décrites par Laveran; corps sphériques avec ou sans flagelles, flagelles libres, corps semilunaires, formes adhérentes ou incluses dans hématies, corps en sporulation.

“Mais elles diffèrent en ce que les auteurs italiens ont encore vu d’autres formes; formes pigmentées à bord ondulé, formes pigmentées dans les divers états de désagrégation jusqu’à la formation des jeunes corpuscules, formes non pigmentées en voie de segmentation dans les capillaires cérébraux, par exemple.

“Cependant, la différence ne serait pas grande s’il ne s’y ajoutait une interprétation aboutissant à des résultats opposés de part et d’autre.

“1°. Pour Laveran, le parasite parfait c’est *le flagelle libre*. Les corps sphériques, *petits* ou *grands* ne sont que des kystes, c’est-à-dire sacs enfermant le parasite.

“Pour les auteurs italiens, les corps flagellés ne sont que des formes dégénératives, stériles, nullement des kystes; le mouvement de ces flagelles ne sont que des phénomènes agoniques.

“2°. Pour Laveran, le parasite n’est pas endoglobulaire, tout au plus dans les premières phases de son développement est-il accolé aux hématies, mais à l’état parfait il s’en détache pour vivre d’une propre vie dans le sérum.

“Pour les auteurs italiens, le parasite *est essentiellement endoglobulaire*; il naît et se développe à l’intérieur du globule rouge; s’il en sort avant la sporulation *il est stérile*.

“3°. Les corps semilunaires semblent être les formes où les auteurs sont le moins divergents; pour Laveran et les auteurs italiens, ce sont des hématies dégénérées grâce à la présence des parasites.

“Mais pour les auteurs italiens, c’est une des formes *dégénératives du parasite*; dans leurs transformations successives, ces corps pourraient, après être devenus sphériques, émettre des prolongements flagellés.

“4°. Il est assez difficile de se faire une idée sur l’opinion qu’à Laveran du rôle des corps en segmentation; dans tous les cas ne sont pour lui que quelque chose d’accessoire. On voit au contraire, que ces corps sont le pivot de la théorie italienne: ils représentent la phase de sporulation des hématozoaires à l’intérieur des globules rouges; la sporulation est le critérium de la vie des parasites, et de leurs chances de nuire; toutes les formes qui ne passent pas par cette phase sont stériles.

“5°. Le mode enfin de reproduction des hématozoaires est différent suivant que l’on consulte les ouvrages de Laveran ou des italiens. Pour ces derniers nous venons de voir qu’ils n’admettent que la sporulation endoglobulaire; on a vu que Laveran admettait la multiplication des corps sphériques, soit par la segmentation en trois ou quatre éléments semblables mais de volume moindre, soit par la production de boules sarcodiques à leur périphérie.

“6°. Autant il est facile de trouver toutes les phases successives du cycle évolutif dans les ouvrages des auteurs italiens précités, *autant la chose semble malaisée à la lecture des œuvres de Laveran*. Voyons la

chose de près : quelle que soit la variété d'hématozoaires on a pour les italiens les phases suivantes.

“ 1°. Corpuscules amiboïdes endoglobulaires d'abord non pigmentés ; 2° puis pigmentés en devenant plus volumineux ; 3° ils suivent alors deux chemins différents : les uns vont sporuler et les ‘sporules’ deviennent libres dans le plasma. Les autres ne profitent pas de la sporulation, restent par conséquent stériles, mais continuent à grandir et tantôt deviennent libres dans le plasma (formes sphériques flagellées), tantôt restent inclus dans les hématies qui continuent à dégénérer (ex. corps en croissant).

“ On voit donc l'homogénéité de la théorie italienne.”

Qu'on me permette d'ajouter que les observations faites sur les animaux sont venues confirmer davantage cette théorie.

J'ai déjà parlé ailleurs et sous un point de vue synthétique des divers parasites du globule rouge qui nous sont connus chez l'homme et chez les animaux et j'en ai faite aussi une démonstration.

De cette façon MM. les Membres du Congrès auront pu se faire une idée de la théorie italienne du parasitisme endoglobulaire de la malaria.



Ueber die Aetiologie und Toxicologie der Cholera asiatica.

VON

Prof. FERDINAND HUEPPE, Prague.



Mit Entdeckung der Kommabacillen bei der Cholera asiatica durch Koeh (1884) trat die Forschung über die Aetiologie dieser Infectionskrankheit in eine neue Phase. Alle methodisch geschulten Forscher mussten sich in Europa überzeugen, dass sich diese Baeterien nur bei der asiatischen Cholera fanden, und sahen sich deshalb, oft mit Widerstreben und nach aufgeben anderer Meinungen, gezwungen, mit Koch diese Baeterienart als Erreger der Cholera anzusehen. Nur wenige Beobachter glaubten sich mit der an sich unbestreitbaren Thatsache des ausschliesslichen Vorkommens dieser Koch'sehen Kommabacillen bei der Cholera asiatica derart abfinden zu können, dass sie meinten, die durch ein unbekanntes Agens veranlasste Cholera schaffe Bedingungen, dass die von ihnen als stets im Darm vorhanden angenommenen aber niemals gefundenen Keime der Kommabacillen sich als Folge der vorausgegangenen Cholera-infection erst entwickelten.

Dieser Versuch, ein unlogisches Denken über die Thatsachen zur Einschleppung einer modificirten Urzeugung zu benutzen, scheiterte aber an der unerbittlichen Logik der Thatsachen. Nur Klein und Lewis versuchten nach Versuchen in Indien, die aber in methodischer Hinsicht nichts weniger als alles zu wünschen übrig liessen, diese Ansicht an halten. Sie fanden auch bei den so conservativen englischen

Aerzten, besonders bei der älteren, mit der parasitären Theorie auf gespanntem Fusse lebenden Generation der Praktiker viele Anhänger, welche es wohl zu schätzen wussten, dass ihnen ein Umdenken lieb gewordener Anschauungen damit erspart wurde. Der Umschwung der Ansichten anderwärts und bei den jüngeren, in Deutschland und Frankreich biologisch geschulten englischen Aerzten und Naturforschern wurde damit allerdings nicht aufgehalten und höchstens bei dem Einflusse, den man fälschlicherweise in England diesen Untersuchungen beilegte, die Consequenzen für die Praxis für England und die von ihm abhängigen Länder zu deren eigenem Nachtheile etwas verzögert.

Mit wirklicher Vertrautheit der Methodik und mit scheinbar besseren Argumenten hat nun neuerdings auch ein verdienter Forscher in Indien selbst, Dr. Cunningham, versucht, die Aetiologie der Cholera asiatica in ihren Grundfesten zu erschüttern. Auch Cunningham kann nicht leugnen, dass er selbst Koch'sche Kommabacillen niemals anders als bei Cholera asiatica gefunden hat, und er hält sie deshalb auch diagnostisch für verwertbar. Aber er bestreitet ihre ätiologische Bedeutung und kehrt trotz seiner naturwissenschaftlichen Bildung zu jener verkappten Urzeugung zurück, nach welcher sich diese Baeterien erst unter dem Einflusse der unbekannten Choleraursache entwickeln. Seine Hauptargumente gegen die ätiologische Bedeutung der Koch'schen Kommabacillen sind, dass er (1) bei den positiven Fällen, in denen er Kommabacillen fand, nicht, ausschliesslich die Koch'sche Art fand, sondern 9 verschiedene, von ihm als verschiedene "Species" aufgefasste Kommabacillen cultivirte; (2) dass er einige mal bei ein und demselben Falle mehrere, bis zu 3 dieser verschiedene "Species" fand und (3) dass er bei einigen typischen Fällen von asiatischer Cholera keine Kommabacillen beobachtete.

Zur Bestimmung der Koch'schen Species, aber auch zur Bestimmung einer Art als nicht hierzu gehörig, liess sich Cunningham ausschliesslich von Koch's grundlegender Beschreibung leiten, d. h. alles, was nicht—mikroskopisch und makroskopisch—genau so aussah, wie Koch es damals beschrieben hatte, war für ihn kein Koch'scher Kommabacillus, sondern eine andere "Species." Nun stand Koch damals und zwar mehr als irgend ein anderer Forscher unter dem Einflusse der "guten" Art, und sein vorher von ihm oft ausgesprochener Grundsatz, alles Typische, aber auch nur dieses, zusammenzufassen, alle, auch die kleinsten Abweichungen dagegen zunächst von den Typischen artlich zu trennen, hatte es wohl mit sich gebracht, dass Koch anfangs die Art seiner Kommabacillus nach den von ihm am meisten beobachteten und deshalb als typisch auf gefassten mikroskopischen und makroskopischen Wuchsformen beschrieb, Abweichungen hiervon aber nicht erwähnte und auch nicht berücksichtigte, sondern diese Ermittlungen der weiteren Forschung überliess.

Dass dieser für den Anfänger zur Einführung in ein exactes Arbeiten so vortheilhafte Grundsatz des Aufsuchens und des Bestimmens nach den "guten" Artmerkmalen wissenschaftlich durchaus ungenügend ist, ist aber inzwischen für so viele Species von Mikrobien festgestellt—man denke doch nur an eine so viel auffallendere Art wie den M.

prodigiosus, an die Variabilität so vieler gährungs- und krankheitserregender Bacterien,— dass Cunningham diesen Gesichtspunkt wenigstens hätte mit in Betracht ziehen müssen.

Werden also bei der Cholera asiatica Kommabacillen gefunden und cultivirt, welche sich nicht genau so wie die Koch'schen verhalten, so ist streng zu untersuchen, ob es sich wirklich um andere "Species" handelt, wie wir sie beispielsweise in den von Denecke, Finkler-Prior und Gamaleïa gefundenen Arten von Kommabacillen kennen, oder ob es sich um Ernährungsmodifikationen der Koch'schen Species handelt. Dass diese letztere Art solche Modifikationen erfährt, haben Buchner und Gruber, Zaeslein und ich vor vielen Jahren bereits angeführt und bei den weiteren Untersuchungen in meinem Laboratorium, an denen sich besonders Wood und Scholl betheiligten, hat sich dies immer wieder von neuem herausgestellt. Ich habe mich wiederholt und in bestimmtester Weise überzeugt, dass eine ganz typische junge Cultur von Koch'schen Kommabacillen je nach den äusseren Einflüssen welche auf sie einwirken, ganz ausserordentliche Abweichungen erfährt welche sich dann bis zu einem gewissen Grade fixiren und vererben, aber auch wieder beeinflussen lassen, so dass ich thatsächlich sämtliche Wuchsformen der neun "Species" von Cunningham bereits bei Ausgang von einem Keime *einer* Species gesehen habe: mikroskopisch von fast ausschliesslich kugeligen und ovalen Formen durch typische Kommas der verschiedensten Stärke und Krümmung bis zu jenen von Cunningham auf Taf. I Fig. 4 abgebildeten schwachen Schrauben; makroskopisch von Colonien, welche die Gelatine gar nicht verflüssigten, durch die typischen Koch'sehen Colonien bis zu solchen, welche die Gelatine intensiv und total verflüssigten.

Bei gleichzeitigem Zutritt von Luft, d. h. bei der gewöhnlichen Art der Cultivirung war besonders die Anhäufung und damit die bald kürzere, bald längere Einwirkung der eigenen Stoffwechselproducte wichtig für die Entstehung verschiedener Wuchsformen, so dass oft ja fast regelmässig die jüngeren Culturen im selben Nährboden Abweichungen von den späteren Uebertragungen zeigten, und dies führte schon zu vererbaren Eigenthümlichkeiten, je nachdem in solchen Stadien die Uebertragungen häufiger oder langsamer vorgenommen wurden. Noch wichtiger wurde es, als daneben gleichzeitig das Nährmaterial und die Reaction desselben variirt und die gleichzeitigen geringen Sauerstoffbeschränkungen berücksichtigt wurden, welche sich für die tieferen Partien aus der Deckenbildung an der Oberfläche ergeben. Die gleichzeitige Einwirkung von genuinem Eiweiss und Luftabschluss führte einige Variationen, die sich leicht fixiren liessen, sogar verhältnissmässig schnell herbei. Je nach der Art und Dauer dieser Einflüsse wurde auch des Wachsthum auf Kartoffeln (kein Wachsthum, farbloses Wachsthum, weisse, gelbliche bis braune Pigmente) und die Fähigkeit, in Bouillon Choleraroth zu bilden, modificirt.

Alle diejenigen Momente, welche bei den Kommabacillen bei ihrem saprophytischen Leben und bei ihren parasitischen Stadien in Betracht kommen, erwiesen sich demnach von Einfluss auf die Formen und die Dauer dieser vorausgegangenen Einwirkungen war von

Einfluss auf die relative Beständigkeit, d. h. Vererbbarkeit solcher Formmodifikationen.

Hiernach bin ich nach Berücksichtigung der von Cunningham gegebenen Einzelheiten sehr entschieden der Ansicht, dass die neun "*Species*" von Cunningham nur *Ernährungsmodifikationen einer einzigen Species*, d. h. eben der Koch'schen Kommabacillen sind und dass das Beweismaterial nicht genügt, um auch nur eine neue Species neben der Koch'schen aufzustellen.

Wenn verschiedene solcher Modifikationen als scheinbar verschiedene Species bei verschiedenen Krankheitsfällen gefunden wurden, so dürfte dies wohl daher kommen, dass die Untersuchungen nicht bei einer ausgebreiteten Epidemie mit ihren mehr gleichartigen Bedingungen, sondern bei mehr sporadischen Fällen zu ganz verschiedenen Zeiten angestellt wurden, so dass auf das Infectionsmaterial der einzelnen Fälle vorher verschiedene äussere Einflüsse sich geltend gemacht haben konnten, abgesehen davon, dass bei derartigen Fällen auch die Momente der individuellen Disposition mit ihren variirenden Einflüssen mehr zur Geltung gekommen sein können.

Wenn Koch nur eine typische Wuchsform seiner Species gefunden hat und nach ihm die Beobachter in Europa desgleichen, so kann dies einmal daran liegen, dass man zunächst überhaupt erst einmal die Species mit ihren durch Koch bekannten Eigenschaften suchte und aus diagnostischen Gründen anderes mehr oder weniger unbeachtet liess dann aber wohl auch daran, dass diese Untersuchungen unter den gleichartigen Bedingungen von Epidemien gemacht wurden, und soweit es sich um Koch's Beobachtungen in Indien handelt, vielleicht auch daran, dass diese letzteren Versuche im Winter gemacht worden waren, während Cunningham's Versuche in Indien zu verschiedenen Jahreszeiten gemacht wurden, wobei Beeinflussungen durch verschiedene äussere Bedingungen leichter möglich waren. Dass übrigens kleine Abweichungen der Form auch in Europa bei einigen Fällen und bei Epidemien an verschiedenen Orten vorgekommen sind, dafür geben immerhin eine Reihe von litterarischen Angaben und Formeigenthümlichkeiten welche ich bei Culturen verschiedener Provenienz (besonders habe ich dies bei Culturen von Triest, Genua, Valencia und Finthen gesehen) unter gleichen Culturbedingungen beobachtet habe, genügend Anhalt und man wird wohl nur neben den typischen Colonien auch auf die anderen Dinge mehr zu achten haben um dies noch viel häufiger zu finden.

Dass sich hieraus für die Diagnose und Differentialdiagnose neue Schwierigkeiten ergeben können, muss ausdrücklich hervorgehoben werden, und für uns in Europa erwächst daraus die Pflicht, bei den ersten verdächtigen Fällen wirklich tüchtige Fachleute zu Rathe zu ziehen, die auch schwierigere Fälle richtig zu beurtheilen vermögen.

Das Auftreten verschiedener Ernährungsmodifikationen einer Species d. h. also in praxi besonders auch Abweichungen im Aussehen der einzelnen Colonien in den Plattenculturen bei ein und demselben Falle von Cholera kann hierbei kaum viel auffallendes haben, und es

ist bis jetzt wohl nur deshalb nicht so beachtet und ermittelt worden, weil die ersten Untersucher der Cholera in Europa unter dem Einflusse der ersten Koch'schen Mittheilung fast nur danach sahen, ob typische Koch'sche Colonieen vorhanden waren. Thatsächlich sind aber bereits schon früher Abweichungen theilweise erkannt und—photographirt worden d. h. im Sinne Cunningham's waren verschiedene "Species," in Wirklichkeit geringe Modificationen einer Art bei ein und demselben Falle vorhanden. Dass Cunningham dies alles so genau mittheilt, beweist nur die Sorgfalt seiner Untersuchung, aber nicht die Richtigkeit seiner Deutung. Ob sich nicht neben den echten Kommabacillen und ihren Ernährungsmodificationen gelegentlich einmal auch noch wirklich andere Species von Kommabacillen finden können, stelle ich nicht in Abrede, besonders wenn ich daran erinnere, dass Lustig in Triest neben den Koch'schen Kommabacillen in einige Fälle auch Finkler-Prior'sche Baeterien nachgewiesen hat. Ich kann demnaech dem zweiten Argumente von Cunningham nicht die Bedeutung beilegen, wie es dieser Forscher versucht, und es scheint mir für die Fälle von Cunningham nicht ein Nebeneinander von verschiedenen Species, sondern nur ein Nebeneinander verschiedener *Modificationen einer einzigen Species* und zwar der Koch'schen Bacterien vorzuliegen.

Wenn Cunningham nicht in allen Fällen Kommabacillen fand, so ist ihm nur das passirt, was allen Beobachtern vorgekommen ist und was sogar bei Infectionkrankheiten vorkommt, deren parasitäre Natur unbestritten ist und deren Parasiten sicher und leicht nachzuweisen sind. Manche negative Resultate werden durch Verbesserung der Methodik beseitigt, von der die von Schottelius und Gruber eingeführte sich bereits für viele Fälle als erfolgreich bewährt hat. Das dritte negative Argument von Cunningham halte ich deshalb für belanglos.

Wenn ich schon so die Beweisführung von Cunningham nicht als gelungen ansehen kann, so muss ich aber ausserdem Argumente anführen, welche positiv für Koch's Auffassung sprechen. Noch niemals sind (4) Koch'sche Kommabacillen bei Gesunden beobachtet worden, was ich sehr entschieden gegen Klein bemerken muss, dessen Worte beim Anhören wenigstens die Vorstellung erwecken konnten, als seien diese Koch'schen Kommabacillen bei Gesunden nachgewiesen worden. Ob nicht einmal zu Zeiten des Vorkommens der Cholera ein Gesunder, nicht Disponirter, Kommabacillen in sich aufnehmen kann, ohne an Cholera zu erkranken, und ob nicht zufällig einmal in einem derartigen Falle Koch'sche Kommabacillen gefunden werden können, will ich nicht weiter erörtern. Bis jetzt sind von cultivirbaren Kommabacillen dieser Gruppe nur die Finkler-Prior'schen (resp. die damit identischen von Miller) je einmal bei Gesunden im Munde und im Darm gefunden worden.

In Europa sind (5) Koch'sche Kommabacillen nur in Fällen zweifelloser Cholera asiatica, aber auch von allen Beobachtern gefunden worden, was in Einklang mit der epidemiologischen Erfahrung der ausschliesslichen Einschleppung der Krankheit aus Indien eindeutig und

entscheidend für Koch's Auffassung spricht. Ich halte aus allen diesen Gründen dafür, dass von allen Ansichten über die Aetiologie der Cholera *nur die parasitäre epidemiologische* haltbar ist und dass in dieser Hinsicht *allein Koch's Ansicht von der ätiologischen Bedeutung seiner Kommabacillen erwiesen ist.*

Koch's Ansichten über die rein contagiöse Natur der Cholera bedürfen dagegen starker Einschränkungen. Unter der bestechenden Einfachheit der künstlichen Uebertragung rein cultivirter Mikroparasiten auf Thiere hatte man sich vielfach gar zu sehr an eine unmittelbare Uebertragung derartiger Thierversuche auf das epidemiologische Gebiet gewöhnt und andererseits sowohl die vom Menschen gebotenen Momente der Disposition und Immunitäts als die äusseren, im Sinne der Epidemiologie miasmatischen Elemente, welche auf die Parasiten ausserhalb der Wirthe von Bedeutung sind, unterschätzt. Bei der Cholera war dies anfangs vielleicht insofern verzeihlich, als die Widerstandsfähigkeit der Kommabacillen gegen Troeknen und Fäulniss zunächst gründlich verkannt war. Immerhin hätte das einzige zweifellos beweisbare Momente, die leichte Cultivirbarkeit der Kommabacillen, gegen einseitig contagionistische Deutungen sofort misstrauisch machen müssen. Wir kennen nirgends in der Natur überflüssige Erscheinungen und der Saprophytismus der Kommabacillen als solcher und die leichte Angewöhnung der aus dem thierischen Organismus entstammenden parasitisch gewesenen Kommabacillen an die saprophytische Lebensweise mit immer leichterem Anpassung an recht mangelhaftes Nährmaterial genügen allein, um dem Saprophytismus der Kommabacillen für die Aetiologie d. h. epidemiologisch, um der miasmatischen Seite dieser Krankheit eine wichtige Rolle zu wahren, so dass ich mich genöthigt gesehen habe, mich gegen jede einseitig contagiöse, aber auch gegen jede einseitig miasmatische Ansicht bei dieser Krankheit auszusprechen.

Während die localistische Richtung für des Entstehen einer Epidemie nur örtliche, aber zeitlich eventuell wechselnde Momente verantwortlich macht, scheint mir auch noch von seiten der Parasiten eine bisher meist vernachlässigte Möglichkeit vorzuliegen. Da die Kommabacillen gerade bei ihrem saprophytischen Leben starken Beeinflussungen ihren Form und Wirkung, ihrer Virulenz ausgesetzt sind so reicht dies vielleicht je nach der Disposition des Befallenen zur Hervorrufung eines Falles aus, aber die Bakterien dieser Provenienz sind nicht virulent genug, zum Hervorrufen einer Epidemie und die letztere erlischt schon wegen der geringen Leistungsfähigkeit der Parasiten nach einem oder nach wenigen Fällen.

Diese von der Bakterien mitgebrachten Momente dürften wohl öfters, als man bisher annahm, der Grund sein, weshalb es trotz nachgewiesener Einschleppung nicht zur Epidemie kam, weshalb die örtliche Disposition an manchen Orten so auffallend wechselt, weshalb aber auch andererseits mehr als 50% aller Epidemien ausserhalb Indiens nachweisbar an eingeschleppte Krankheitsfälle anknüpfen und nicht in irgend einer anderen unklaren Weise eingeschmuggelt werden. Dieser Umstand, dass der Kranke selbst eine viel grössere Bedeutung hat, als die Localisten früher annahmen und selbst jetzt zugeben, zwingt aber auch

zu starken Einschränkungen der Pettenkofer'schen Auffassung der ausschliesslich miasmatischen Genese und lässt die ersten Fälle von grosser Bedeutung erscheinen. Im einzelnen ist die Pettenkofer'sche Auffassung der Beziehungen der Choleraparasiten zum Cholera process nicht mehr haltbar, nach welcher die Parasiten den Körper wirkungslos verlassen und im Boden einen Reifungsprocess durchmachen, der sie wieder virulent und infectionstüchtig macht. Vor mehreren Jahren hatte ich bereits für Cholera und Septikaemia hämorrhagica und Kitt für Schweinerothlauf nachgewiesen, dass die Parasiten dieser Krankheiten gerade umgekehrt den thierischen Organismus relativ sehr virulent verlassen, aber ausserhalb ev. Einbusse an Virulenz erleiden, d. h. dass die Sache gerade umgekehrt war, wie Pettenkofer vermuthete. Später hat ohne jede Rücksicht hierauf Serafini in Pettenkofer's Laboratorium ganz dasselbe von neuem, zum Theil für dieselben Bakterien bewiesen, wobei er auffallenderweise die Möglichkeit zulässt, dass für Cholera und Abdominaltyphus das Gegentheil vielleicht doch noch richtig sein könnte. Meine eigenen früheren Versuche und weitere Ermittlungen meines Schülers Wood haben aber eclatant ergeben, dass die Beziehungen der Kommabacillen zum Saprophytismus und Parasitismus die folgenden sind. Bei dem anaëroben Leben im Darm sind infolge der anaëroben Zersetzung des dort vorhandenen Nährmaterials die Kommabacillen besonders giftig, aber gegen äussere Einflüsse sehr wenig widerstandsfähig, während sie bei aëroben Leben leicht Schwankungen und Einbusse der Virulenz zeigen, aber (derbere Membranen, Zoogloeeabildung, Arthrosporen-Zoogloea) gegen äussere Einflüsse widerstandsfähiger werden.

Unter Zugrundelegung aller epidemiologischen und bacteriologischen Ermittlungen entspricht zur Zeit nur die von mir streng inductiv entwickelte Ansicht allen Thatsachen: *Die Kommabacillen sind die Erreger der Cholera asiatica, diese Bakterien kommen im Darm durch eine Intoxication zur Wirkung, welche streng causal abhängig ist von der dortigen Anaërobiose. Infolge dieses anaëroben Lebens im Darm werden die Parasiten bei hoher Giftwirkung, infolge geringer Ansammlung der Membran gegen äussere Einflüsse wenig widerstandsfähig. In diesem virulenten, aber wenig widerstandsfähigen Zustande verlassen sie den Körper, sodass sie (aus diesem Grunde und nicht aus Mangel an Virulenz) zu direktem Uebertragen von Kranken auf Gesunde wenig geeignet sind und die contagiöse Uebertragung der Cholera zns Ausnahme wird. Im aëroben Wachsthum ausserhalb werden sie gegen äusser Einflüsse widerstandsfähiger, d. h. zur Infection geeigneter und diese selbst wird dadurch von äusseren Momenten mit bestimmt und in der Regel zu einer indirecten und miasmatischen.*

Unter dieser äusseren Beziehungen dürfte häufig, in Indien wohl in der Regel, aber auch bei uns, wie neuerdings wieder die schönen epidemiologischen Ermittlungen von Hauser in Spanien erweisen, oft, der Boden selbst mit seinem Wechsel von Feuchtigkeit, Nährmaterial und Luft das bestimmende sein. Dass sehr resistente, aber wenig virulente Kommabacillen durch Passiren von Thieren wieder virulenter d. h. zur Anaërobiose und der Intoxication geeigneter werden, wie ich es

wiederholt constatirt habe, ist ein deutlicher Hinweis für das Ansteigen der Epidemien mit zögerndem Beginn, wie es die ältere Schule als Contagiös-werden miasmatischer Krankheiten bezeichnete.

Mit dieser Auffassung von mir wird nicht nur das Richtige der Ermittlungen und Ansichten von Pettenkofer und Koch befriedigender als bisher erklärt, sondern es werden, wie Arnould und Duclaux hervorheben, auch die doctrinären Einseitigkeiten beseitigt, welche die Pettenkofer'sche Theorie stets gegen sich hatte.

Die Choleraparasiten leben nach Koch's Nachweis nur im Darm und dringen von da aus nicht in das Blut und die Gewebe ein. Koch kam deshalb zur Erklärung der Infectionswirkung der Kommabacillen wieder auf die ältere, aber inzwischen meist verlassene Ansicht zurück dass der *Choleraprocess ein Intoxicationsprocess* sei, dadurch bewirkt, dass die Kommabacillen im Darm Gifte bilden, welche resorbirt werden. Es gelang nun auch in der That verschiedenen Beobachtern, Nicati und Rietsch, Koch, van Ermengem, Klebs und mir eine Giftwirkung der Kommabacillen zu beobachten und weiter gelang es auch besonders Brieger aus solchen Culturen basische Körper, Ptomaine, als Toxine zu isoliren. Aber diese Versuche waren, so sehr sie anfangs diese Ansicht zu stützen schienen, doch vollständig verfehlt und der *ganze 2. Theil der Choleraätiologie, die ganze Toxicologie der Kommabacillen blieb ungelöst*. Es war nämlich stets übersehen und in der Bedeutung verkannt worden, dass derartige Gifte sich stets sehr spät und bei Anaërobiose der Kommabacillen bildeten, und es stellte sich bei den Versuchen in meinem Laboratorium ausserdem später heraus, dass die Methoden zur Darstellung derartiger Toxine die eigentlichen Choleragifte vernichten.

En mussten also vorher noch einige grundsätzliche und methodische Fragen gelöst werden und dies gelang mir allmählich, zum Theil mit meinen Schülern Wood und Scholl. Da die Baeterien im Darm bei Ausschluss von Luft oder doch höchstens bei Gegenwart von Spuren von Luft leben, so musste zuerst die aussichtslos erscheinende Frage der Anaërobiose der Kommabacillen gelöst und dann mussten Ernährungsbedingungen geschaffen werden, die natürlicher waren als die in Bouillon und welche sich mehr den im Darm möglichen näherten.

Im Gegensatz zu der angeblich ausschliesslich aëroben Lebensweise der Kommabacillen hatte ich und dann Flügge und Liborins gesehen, dass die Kommabacillen gelegentlich in Gelatine auch anaërob wachsen können. Indem ich von dieser Beobachtung ausging fand ich im Gegentathe zu der herrschenden Ansicht von der unterstützenden Wirkung des Zuckers bei der Anaërobiose, dass dies für Kommabacillen nicht galt und dass die geringen, aus dem Zucker gebildeten Säuremengen das anaërobe Wachsthum bald hemmten; auch die Neutralisirung der Säure durch kohlensauren Kalk gab keine wesentlich besseren Resultate. Auch als ich, entsprechend Naegeli's Ansicht von der allgemeinen Bedeutung des Peptons für die Ernährung bei Anaërobiose, diesen Körper mehr heranzog, blieben die Resultate gleich schlecht. Trotz dieser wenig ermunternden Resultate zwangen mich die stark reduci-
renden Wirkungen der Kommabacillen, die Versuche fortzusetzen. Ich

versuchte nunmehr, zur Anaërobiose von Bacterien auszugehen, welche schon im Darm von Thieren anaërob gelebt hatten, also bereits an ein derartiges Leben gewöhnt waren, und andererseits versuchte ich, aërob cultivirte Bacterien *allmählich* an die Anaërobiose zu gewöhnen, und diese Versuche ergaben nur einen wichtigen Anhalt, insofern ich *die Bedingungen des anaëroben Lebens der Kommabacillen* immer besser erkannte und sah, dass man Kommabacillen, welche bis dahin rein aërob cultivirt waren, vortheilhaft und sicher nur durch Beschränkung des Sauerstoffs hindurch zur strengen Anaërobiose zwingen kann. Dann erkannte ich weiter, dass *zur Ernährung unter Luftabschluss höhere möglichst wenig veränderte, wenn möglich genuine Eiweisskörper* geeigneter resp. nothwendig sind. Allen diesen Bedingungen entsprach die von mir eingeführte *Cultur in rohen Eiern* so ausgezeichnet, dass ich bereits von mehreren Jahren auf diese Weise aus einem Ei *in kurzer Zeit so viel Gift* erhielt, um drei Meerschweinchen mit viel charakteristischeren Symptomen und schneller zu tödten, als es bis dahin jemals der Fall war, und ich durfte mich damals bereits berechtigt halten, hiermit den zweiten restingenden Thiel der Cholerätiologie *grundsätzlich gelöst* zu haben.

Unter dem Einflusse der Brieger'schen Arbeiten über Ptomaine gelang mir dagegen eine Isolirung der Gifte als Ptomaine nicht. In den Eiern fand ich die Giftwirkung so früh, als von Ptomainen im Brieger'schen Sinne sich noch nichts fand, und diese Giftwirkung der Eierculturen wurde sogar durch die Methoden zur Ptomaindarstellung aufgehoben, andererseits erwiesen sich die Culturen, aus welchen Ptomaine sicher gebildet werden, d. h. besonders die lange aërob cultivirten Bouillonculturen als nicht annähernd so giftig und charakteristisch als die kurz cultivirten anaëroben Eierculturen. Es musste sich also entweder um ganz andere Ptomaine oder um Gifte aus ganz anderen Gruppen handeln. Mit der speciellen Ausführung dieser Untersuchungen hatte ich dann Scholl betraut, der zunächst nochmals die Bedingungen der Giftbildung genau nachsuchte und wiederum zu demselben wichtigen Experimentalergebniss kam, dass die Anaërobiose und das richtig gewählte Eiweiss als Nährmaterial die Causalbedingungen für die prompte und sichere Entstehung der Choleragifte schaffen. Bei der Sicherheit des Ausgangspunktes konnte nunmehr die Lösung der Frage von neuem angestrebt werden. Es erwies sich dabei eine von mir bereits früher aus vielen biologischen Thatsaehen abgeleitete Gesetzmässigkeit zur Leitung von Wichtigkeit. Der mit der Ernährung einhergehende thermische Effect bei der Zersetzung von Nährmaterial bringt es mit sich, dass zur Bildung genügender Energie bei *Anaërobiose grosse Mengen von höherem complexen Nahmaterial relativ nur wenig zerlegt* werden, während bei Aërobiose auch geringwerthiges Nährmaterial durch Oxydation leicht die genügende Wärmemenge liefert. Da sich für sehr tiefgreifende Zerlegungen der Eier keine Anhaltspunkte ergeben hatten, so musste nunmehr zwingend erwartet werden, dass die den in Eiern gebildeten Gifte wahrscheinlich überhaupt keine Basen, sondern höhere Körper waren, andererseits musste aber auch erwartet werden, dass bei einem zur Anaërobiose

geeigneten Nähmaterial bei Aërobiose die Gifte wieder durch Oxydation zerstört werden.

Eine ausführliche Publication dieser Versuche wird durch Scholl erfolgen. Ich begnüge mich deshalb, nur so viel anzuführen, wie zum Verständnisse nöthig ist.

Die Hauptresultate aller unserer bisherigen Versuche sind folgende: (1.) *Die Kommabacillen vermögen in Bezug auf Luftgehalt (Anaërobiose) und Nähmaterial (Eiweiss) unter den Verhältnissen zu leben, wie sie im Darm thatsächlich vorhanden sind.* (2.) *In diesem Falle spalten die Kommabacillen aus den Eiweisskörpern charakteristische Gifte ab welche zu der Classe der Eiweisskörper gehören.* Aus dem Eiereiweiss bildet sich ein Körper, der im gereinigten Zustande alle Reactionen des Peptons im Sinne der bisherigen Eiweisschemie zeigt. Dieses giftige Pepton lähmte die Thiere, das Fell derselben wurde struppig, der Cornealreflex blieb schliesslich aus, dann traten Zuckungen der Extremitäten und endlich der Tod ein, und zwar bei grösseren Mengen in wenig Minuten. Bei der Section fand sich starke Injection der Dünndarmgefässe, Herzstillstand in Diastole und starke Hyperaemie der Nieren. Die Giftwirkung konnte durch Bildung des Peptons an Säuren, z. B. Gerbsäure aufgehoben werden, trat aber nach Ausfällung der Säure wieder auf.

Dieser Körper ist im üblichen Sinne ein Pepton und ändert sich auch wie das gewöhnliche Pepton durch Kochen insofern nicht, als er nach dem Kochen alle die gleichen chemischen Reactionen und physikalischen Eigenschaften zeigt wie vorher. Die Vermuthung von Nencki, dass diejenigen Toxalbuminosen, welche das Kochen vertragen, zu den Albumosen oder Peptonen, diejenigen, deren Giftwirkung durch Kochen vernichtet wird, zu den eigentlichen Eiweiskörpern gehören dürften, trifft bei dem vorliegenden Falle nicht zu. Biologisch nämlich ändert sich dieses Gift durch das Kochen ganz wesentlich, indem hierdurch seine Giftwirkung vernichtet wird. Da Chemisch tiefgreifende Verschiebungen (wie sie bei Uebergang der einzelnen Eiweissarten in einander als Atomverschiebungen und mindestens als Hydrolysen auftreten) nach diesem Gleichbleiben der Reactionen und physikalischen Eigenschaften zu urtheilen, nicht stattgefunden haben können, scheint mir die Alteration durch das Kochen in Lösung von Polymerisationen zu liegen und fasse ich deshalb den Uebergang aus dem lebenden giftigen Pepton in das todte nngiftige Pepton als Lösung von Polymerisationen auf resp. ich betrachte das lebende Eiweiss in diesem Falle als ein Polymer des todten, mit denen sich die physiologische Chemie bisher ausschliesslich beschäftigt. Uebrigens müssen auch noch viele andere Beobachtungen über giftige Eiweisskörper uns an den bisherigen Gruppen der Chemie irre machen, und viele neuen Beobachtungen zeigen von neuen die Richtigkeit der Anschauungen von Pflüger und Löw, dass wir die Arbeiten über todttes Eiweiss nicht ohne weiteres auf das lebende Eiweiss übertragen dürfen, worüber ich bei Gelegenheit von Schwefelwasserstoffbildung durch Bakterien durch Holschewnikoff die ersten bacteriologischen Thatsachen hatte publiciren lassen.

Das Cholerapepton ändert sich schon beim Eindampfen der Lösungen im Vacuum bei 45°, die Temperatur von 70–75° vernichtet die Giftwirkung nach einiger Zeit, das Kochen sofort. *Das Gift verhält sich also Eingriffen gegenüber wie die es bildenden Bakterien selbst und dann ähnlich wie ein Enzym.* Doch war die Wirkung nicht die eines solchen, sondern es war eine mit der Giftmenge zu- und abnehmende Intoxication. Die tödtliche Dosis war 0.2 g auf 1 kg Meerschweinchen.

Aus dem Handelspepton, d. h. aus Albumose bildete sich bei Anaërobiose wieder dasselbe giftige Pepton, aber in beträchtlich geringeren Mengen, und aus echtem Pepton bildet sich das Gift nicht. Das Gift entsteht demnach durch Spaltung aus Eiweiss und nicht durch Atomverschiebung oder Synthese aus Pepton.

Bei der Anaërobiose bildete sich in den Eiern ausserdem noch ein giftiges Globulin, welches Krämpfe hervorrief, aber bei der Section keine der obigen Alterationen erkennen liess. Dieser giftige Eiweisskörper war wohl nur ein Nebenproduct der Zerlegung dieser bestimmten Albuminate und fehlte bei der Zerlegung anderer Eiweisskörper, so dass er als nicht specifisch im Sinne der eigentlichen Choleraintoxication angesehen werden konnte. Von weiteren Spaltungsproducten war nur noch Indol besonders zu vermerken.

(3.) Bei Aërobiose auf demselben Nähmaterial bilden die Kommabacillen wieder dasselbe giftige Pepton, wie bei Anaërobiose. Während aber die Anaërobiose als reinste Form der Spaltung des Nährmaterials hierbei *stehen* bleibt, so dass sich Peptons *stets* mit Sicherheit findet, wird das ganze Nähmaterial bei Aërobiose als Folge des Luftlebens der Kommabacillen weiter zerlegt und oxydirt und *dadurch das Gift wieder zerstört*. Die Giftmenge erreichte bei Luftzutritt bis zum fünften Tage das Maximum, nahm dann allmählich mehr und mehr ab und war am achtzehnten Tage ungefähr wieder ganz verschwunden unter Auftreten von weitergehenden Zerlegungs und Oxydationsproducten.

Bei Aërobiose bildete sich aber neben dem eigentlichen giftigen Pepton noch ein anderes pepton-resp. albumoseartiges Gift, welches Lähmungen, bisweilen auch Krämpfe bewirkte; bei der Section fand sich wieder Injection des Dünndarmes, aber keine Hyperämie der Nieren. Dieses Gift konnte ohne Verlust seiner Giftwirkung kurze Zeit auf 100° erhitzt werden und dürfte wohl identisch sein mit den von Brieger und Petri bei aëroben Choleraeulturen gefundenen toxischen Eiweisskörpern. Aber dieses Gift bildete sich nur bei Luftzutritt und auch dann nicht aus jedem Eiweiss und es fehlte bei Anaërobiose. Dieses Gift und das Globulin können wegen dieser von Zufälligkeiten des Nährmaterials und der Wachstumsbedingungen abhängigen Bedingungen nicht als das wesentliche Choleragift angesehen werden, und nur das erste bei Anaërobiose und im Beginn der Aërobiose gebildete, stets vorhandene Pepton entspricht allen *Bedingungen des specifischen typischen Choleragiftes*.

Die Bedeutung der Anaërobiose liegt, wie oben dargelegt, nicht darin, dass nur bei Luftabschluss das Gift gebildet wird, bei Aërobiose aber nicht, sondern darin, dass sich *das Gift bei Anaërobiose unter reinen Bedingungen bildet und anhäuft, während es bei Aërobiose*

wieder später zerstört wird. In dem Verkennen dieser Dinge liegt wohl auch der Grund zu vielen Missverständnissen und falschen Auffassungen über zunehmende Giftbildung der Cholerabakterien, wie sie von Löwenthal aufgestellt und von mir zurückgewiesen waren. Man hatte früher öfters beschränkte Anaërobiose, wo man aërob zu eultuviren glaubte, und damit, ohne es zu wissen, auch die Vorthteile des Luftabschlusses für die Bildung und Erhaltung von Gift, dessen Entstehen man an ganz unrichtiger Stelle suchte. So fand Scholl bei direkt hierauf gerichteten Versuchen, bei denen theils die Deckenbildung an der Oberfläche begünstigt war und damit die tieferen Schichten gegen Luftzutritt geschützt waren, theils aber die Deckenbildung absichtlich verhindert und für intensiven Luftzutritt gesorgt war, regelmässig, dass bei Membranbildung also bei Anaërobiose stets mehr des eigentlichen giftigen Peptons gebildet wurde als bei Zerstörung der Decken, d. h. als bei reiner Aërobiose.

Das allgemeine Resultat für die Bildung des eigentlichen Cholera- giftes gestaltet sich folgendermaassen. :—

—	Wachstum.	Gift.
Anaërobiose : genuines Eiweiss - -	üppig	viel
„ todtcs „ - -	spärlich	wenig
Aërobiose : genuines „ - -	„	„
„ todtcs „ - -	üppig	„

4. Ptomaine waren an der Giftbildung unbetheiligt, und die Methoden zu ihrer Darstellung vernichteten das eigentliche Cholera- gift und ausserdem wurden die Ptomaine nur bei Luftzutritt gebildet und erst in späteren Stadien nachweisbar, als die eigenlichen Toxo- peptone bereits längst schon durch weitere Zerlegung und Oxydation vernichtet waren. *Die Ptomaine waren demnach wichtig und interessant für den Saprophytismus der Kommabacillen aber ohne jede Bedeutung für den Parasitismus derselben.*

Um zu untersuchen, ob nicht dasselbe giftige Pepton auch bei ähnlichen Proecessen bildet, ob es also wirklich für die Cholera specifisch ist, wurden noch Fäulnisproeesse und ein Fall von Cholera nostras in analoger Weise untersucht, und auch hierbei fanden sich eiweissartige Gifte und zwar auch giftige Peptone, die aber das Koehen vertrugen und sich im *Thierversuche abweichend verhielten.*

Der Resorptionsvorgang des Giftes selbst war, wie ich kürzlich an anderer Stelle ausführte, bisher stets falsch gedeutet worden. Man ging von der unrichtigen Auffassung aus, dass, wenn die normale Darmsehleimhaut schon glücklicherweise schlecht Gifte resorbire, eine kranke Schleimhaut wie die des Cholerakranken, dies noch schlechter thun müsse. Man verkannte ganz, dass die normale Schleimhaut einen Schutzapparat darstellt wie die Haut und dass die Zerstörung des Epithels hier wie dort die resorbirenden Lymphgefässe schutzlos macht und sie zur Resorption der Gifte gerade geeignet maecht. Aus diesem Verkennen des physiologischen Vorganges rühren wohl auch die

Versuche her, entweder die Giftresorption tiefer in den normal gebliebenen Dickdarm zu verlegen, oder die Cholerasymptome als Shock von der wunden, allen Insulten preisgegebenen Darmwand ausgehen zu lassen oder gar alles aus dem Wasserverluste zu erklären, d. h. gelegentlich wichtige, aber auch oft fehlende Dinge zur Hauptsache zu machen.

In Wirklichkeit liegt aber die Sache so, dass nach Schmidt-Mühlheim schon das normale Pepton, wenn es in das Blut gelangt, ein heftiges Gift ist, während nach Hofmeister die Darmepithelien das bei der Verdauung gebildete Pepton in Eiweiss zurückverwandeln. Indem ich diese isolirt gefundenen und gebliebenen Thatsachen in Verbindung brauchte, wurde ich zu der Ansicht geführt, dass die Thätigkeit der *normalen Epithelien des Darms als Schutzeinrichtung gegen eine Intoxication durch Gifte von Charakter der diffusiblen Peptone und Albumosen aufzufassen ist. Jede Zerstörung der Darmepithelien setzt diese Schutzeinrichtung gegen vom Darm ausgehende Intoxicationen herab oder hebt sie bei starker Zerstörung sogar vollends auf.* Wenn dies schon bei gewöhnlichen Verdauungspeptonen und schwächer giftigen Peptonen bei Diarrhoen der Fall ist, in wie viel höherem Maasse muss es bei einem heftig giftigen Pepton mit seiner Wirkung auf specifisches Protoplasma der Fall sein, wie es das Cholerapepton ist?

Die Zerstörung der Darmepithelien bei der Cholera durch die Vegetation der Kommabacillen im Darm begünstigt demnach in Gegensatz zu der bisherigen Ansicht gerade die Resorption der Toxine.

Da die Giftwirkung bei der Cholera eine ganz acute ist, so ist diejenige Therapie, welche erst als Gegengifttherapie einwirkt, in einer sehr schwierigen Lage und in diesen Umstände ist wohl auch der Hauptgrund der bisherigen geringen Resultate zu suchen. Insofern ist die Therapie der acuten Infectionskrankheiten viel aussichtsloser als die der chronischen, aber immerhin nicht ganz hoffnungslos. Viel günstiger wird sich die *Therapie* solcher acuten Infectionskrankheiten gestalten, wenn es streng ätiologisch gelingt, die Intoxication zu verhindern oder einzuschränken, *indem man die Infectionserreger als Giftbildner möglichst früh vernichtet oder hemmt und damit die Giftbildung unmöglich macht oder sie doch in Schranken hält.* Dieser Indication genügt in einer unserem jetzigen Wissen und Können entsprechenden Weise, also voll und ganz, die Behandlung mit Salol und die bisherigen, z. Th. glänzenden Resultate beweisen auf jeden Fall schon jetzt die Richtigkeit *dieses streng wissenschaftlichen ätiologischen Princips.* Die weitere Durchführung desselben im einzelnen ist aber bereits angebahnt, seit es gelingt, viele Körper von hohem Desinfectionswerthe als *Salole* herzustellen und die Form der Verabreichung der Salole bequemer zu gestalten, worüber ich im einzelnen, aber jetzt noch nicht referiren kann, weil diese Versuche noch nicht ganz abgeschlossen sind.

DISCUSSION.

Prof. Max Grüber (Vienna) hat sich bei zahlreichen Fällen von *Cholera asiatica* selbst davon überzeugen können, dass der von Koch entdeckte Kommabacillus stets vorhanden ist. Er ist vollkommen von der specifischen Bedeutung desselben überzeugt. Die ausgezeichneten Demonstrationen von Dr. Klein überzeugen ihn nicht davon, dass es hier sich wirklich um verschiedene Arten handelt. Die Lehre von der absoluten Formconstanz der Bakterien ist falsch. Vor Jahren schon hatten Redner und Hans Buchner gezeigt, dass gerade bei den Choleravibrionen ausserordentlich grosse Verschiedenheiten im Aussehen der Colonien und der Individuen vorkommen. Redner hat sich überzeugt, dass bei verschiedenen Cholerafällen Unterschiede im Aussehen der Vibrionen und ihrer Colonien bestehen. Diese Unterschiede erhalten sich auch bei Weiterzüchtung durch einige Zeit, so dass sie als constant erscheinen können. Wenn man aber geeignete Ernährungsbedingungen anwendet, kann man alle diese Formen in einander überführen. Redner hat alle die Unterschiede, welche von Dr. Klein demonstriert wurden, bei Choleraculturen gesehen, und durch Cultur schliesslich in einander überführen können. Redner lenkt die Aufmerksamkeit der Versammlung auf die von ihm ausgestellten Präparate. Sie stammen von Meer-schweinchen, welche mit Choleravibrionem, welche nach Hueppe anaërobisch gezüchtet worden waren, peritoneal injicirt waren. Sie zeigen, dass die giftproducirenden Vibrionen im Stande sind, die sauerstofffreien Gewebe zu durchwuchern. So sieht man ein Zwerchfell dessen intramusculäres Bindegewebe von Choleravibrionen erfüllt ist. In Hueppe's Versuchen kam es nicht zur parasitischen Wucherung der Choleravibrionen, weil dort grössere Giftmengen injicirt wurden, und daher die Thiere zu rasch zu Grunde gingen. Die Meerschweinchen, von denen die vorliegenden Präparate stammen, überlebten die Infection bis zu 24 Stunden lang.

Dr. Bruce (Netley) said it was curious how often the statements made with regard to this subject were controverted and had to be withdrawn. Thus, Dr. Gamaleia brought forward apparently convincing evidence to prove that he could produce immunity against cholera by processes which depended in the first place on the exaltation of virulence of Koch's comma-bacillus by growing it in the blood of pigeons, or in the pleural cavity of white rats. Dr. Pfeiffer had, however, shown with regard to the former of these two processes that the method gave fallacious results.

Dr. Bruce himself had made experiments in this relation with cultures of the comma-bacillus he had obtained from Calcutta. The cultures had all the characters of Koch's comma-bacillus, and proved fatal to guinea-pigs when injected. It was grown in many ways, and injected into the pleural cavity of a number of white rats.

All of these remained alive, although, according to Gamaleia's results, they ought to have died in 24 hours.

He had further failed to verify Prof. Hueppe's observation as to the existence of a spore stage in the development of the cholera bacillus; as also the further statement from Prof. Hueppe's laboratory that cholera bacilli grown in the interior of hen's eggs for 18 days were found to be intensely poisonous when injected into guinea-pigs. This observation he had repeated several times, but with negative results, most of the guinea-pigs remaining alive.

On the other hand, Koeh's observations were so thorough, and his statements so clear, that he had never failed to confirm them when he had tried. He thought there was sufficient evidence to prove that in every case of cholera the comma bacillus could be found. The different varieties described might be accounted for by differences in the cultivating media.

The Human Mouth as a Focus of Infection.

BY

DR. W. D. MILLER, Berlin.

During the last few years the conviction has grown continually stronger, among physicians as well as dentists, that the human mouth, as a gathering place and incubator of diverse pathogenic germs, performs a most significant role in the production of various disorders of the body, and that many diseases whose origin is enveloped in mystery, if they could be traced to their source, would be found to have originated in the oral cavity.

It shall be my endeavour in the following pages (1) to call attention to the various diseases, both local and general, which have been found to result from the action of micro-organisms collected in the mouth, and to the various channels through which these germs or their waste products may obtain entrance to parts of the body adjacent to or remote from the mouth; (2) to present in very brief form the present condition of our knowledge of the pathogenic bacteria met with in the mouth, and the means at our command for combating them.

I hope finally to be able to add some results of original investigations in this field which may help to establish the great importance of a thorough understanding on the part of the physician, no less than of the dentist, of the mouth germs as a factor in the production of diseases.

The subject will be presented under the three following heads:—

- I.—Disturbances of the human body which have been traced to the action of germs growing in the mouth.
- II.—The pathogenic mouth bacteria.
- III.—Prophylactic measures.

I.—Diseases of the Human Body which have been traced to the action of Mouth Bacteria.

Decay of the teeth.—In conformity with the nearly unanimous verdict of all recent investigations, decay of the teeth must be regarded as the most widespread of all parasitic diseases to which the human body is subject, and although, as far as the life of the patient is concerned, the prognosis is exceedingly good, and decay of the teeth may be

pronounced one of the most trivial disturbances of the human economy, yet, if we take into consideration the results which follow a ease of general decay, particularly in the mouths of young or weak persons, it often becomes a disease of a very grave nature. I venture to say that most dentists will agree with me that the havoc wrought by dental caries in the mouths of vast numbers of children, or even adults, among the lower classes is a much more serious thing than an attack of chicken-pox, rubeola, or even measles. Among the more immediate results of caries of the teeth may be mentioned *diseases of the pulp and pericementum*; following these, *alveolar abscess*, which is produced by germs and their products passing from the root canal through the foramen apicale into the surrounding tissue. Primarily of a local character, it is very frequently accompanied by general symptoms of varying intensity, and sometimes attended by complications of most serious nature, death from alveolar abscess being by no means as rare an event as is usually supposed.

Further complications of decay of the teeth are *ostitis*, *osteomyelitis*, *periostitis*, *necrosis*. Schede (Hamburger krankenhaus) observed eight cases of osteomyelitis following extractions, all of which terminated fatally.

Koehler (Charité Annalen, Jahrg. XIV. and XV., 1888-89) observed in two years 44 cases of periostitis, partly from diseased teeth, partly following extractions. *Dental fistulae*, "running sores," on the shoulder, neck, breast, and arm, have repeatedly been found to arise through diseased teeth.

Cases in which septicæmia, pyæmia, and meningitis resulted from diseased teeth or from operations in the mouth have been reported by scores. Two deaths from this source have recently occurred in Berlin.

Croupous pneumonia must be regarded as a disease in all probability closely dependent upon the condition of the mouth. The uniform results obtained by the investigators on the subject of pneumonia for the last five years leave little room for doubt that the cause of this important disease is to be sought for in a species or group of micro-organisms which are constantly present in the sputum of persons suffering from pneumonia, and very frequently even in the saliva of quite healthy persons.

Furthermore, there is much reason in the arguments of Meltzer (Ueber die mechanischen Verhältnisse bei der Entstehung der Pneumonie. Med. Monatssehr., Feb. 1889), who claims that it is impossible for micro-organisms from the air to obtain direct entrance into the alveoli of the lungs through the air passages, with their numerous crooks and turns, but that they first lodge in the mouth or pharynx, from which they may, by a strong inspiration, be carried with particles of slime into the broncheoli, to be then finally driven into the alveoli through the pressure of the air in the broncheoli during the middle phase of the act of coughing.

This view is supported by the fact that, as shown by the investigations of Hildebrandt (Beiträge zur pathol. Anatomie u. Physiologie von Ziegler und Nauwerk, Bd. II., 1888, p. 143), that the trachea,

bronchi, &c. of animals contain no living germs. Hildebrandt, moreover, came to the conclusion, after a series of very careful experiments, that by far the greater part of the bacteria of the air lodge in the mouth, nose, and throat, and that, under ordinary circumstances, these cavities furnish an almost perfect filter for the air.

Again, it is highly improbable that the number of germs inhaled at any one time would be sufficiently great to maintain themselves in the human lungs without having undergone at least a temporary stay in the mouth, which serves as their reeruiting or breeding place. Furthermore, the micrococcus of pneumonia not only does not proliferate at the ordinary temperature of the air, but, what is of still greater importance, soon loses its virulence when cultivated out of the body, even under the most favourable conditions, which is also another potent reason for the supposition that in pneumonia the mouth and not the air is the direct source of infection.

The infectious Anginæ (tonsillitis, amygdalitis infectiosa, &c.), with their severe complications, have been shown by the observations of Bouchard, Von Hoffmann, A. Fränkel, Fürbringer, Heubner, and Bahrdt, Apolant, Leyden, &c., to be due to the localisation of germs in the tonsils.

Writers on the subject of *Angina Ludovici* designate slight wounds or other breaks in the continuity of the mucous membrane, diseased teeth, the tonsils and salivary ducts, &c., as points of entrance for the specific germs of the disease, while the diseases of the maxillary sinus are known to owe their origin, in the great majority of cases, to diseased teeth.

Pneumococcus abscesses.—In this connexion I call attention to the fact that the micrococci of sputum septicæmia, as shown by various authorities, possess invasive properties of the highest order, so that there is scarcely any part of the human body which may not fall a prey to their action. I may mention here parotitis, multiple subcutaneous abscesses, tonsillitis, otitis media, abscesses of the mastoid process, peritonitis, and meningitis.

Of 203 cases of *actinomycosis* reported in the German medical literature of the last five years, the point of entrance was found to be in the region of the mouth and throat 120 times, not including the cases of actinomycosis of the intestines. In nine cases it was doubtful and in the remaining 74 it was outside the mouth.

Most frequently carious teeth are brought into causal connexion with the invasion, then wounds on the mucous membrane, colonisation of the fungus in the tonsils, &c.

Noma, according to the observations of Schimmelbusch, Grawitz, and Loeffler, appears to be in some way dependent upon a specific bacterium in the form of a bacillus, which Schimmelbusch succeeded in cultivating.

We mention only furthermore *pyorrhæa alveolaris*, swelling of the lymphatic glands of the lower jaw and neck, disturbances produced by the absorption of products of putrefaction or fermentation through the

mucous membrane of the mouth, the *stomatitides*, *pharyngomycosis*, *stomatomycosis*, *thrush*, and, of doubtful parasitic nature, *stomatocace*, *aphthæ* and *herpes labialis*.

Of infectious diseases of a general nature with localisation in the mouth we mention *diphtheria*, *tuberculosis*, *syphilis*. We cannot here enter into a discussion of the question as to how far a neglected condition of the human mouth may tend to facilitate the spreading of these infections. Primary diphtheria of the mouth, as well as primary tuberculosis, have been repeatedly observed to originate about carious teeth.

I can mention but briefly only an epidemic of *stomatitis epidemica*—foot-and-mouth disease in man—in which no less than 6,000 people suffered from this disease in a very severe form, some 40 cases ending fatally, and many more completely disabling the victims of the disease. It was communicated chiefly through drinking glasses (beer glasses). Dr. Siegel will soon furnish an extensive report of this very interesting matter.

Infections following operations in the mouth.—In recent years the demand for the adoption by dental surgeons of the same antiseptic measures observed by the general surgeon has constantly become more and more imperative. Attention has been repeatedly called to the fact of bloody operations in the mouth, such as tooth extractions, performed, as too many of them are, without the slightest regard to the principles of asepsis, often lead to infections of a serious nature which might have been easily avoided; not only that, but carelessness in regard to cleansing the instruments after every operation frequently results in the communication of disease from one individual to another.

Infections resulting from wounds with dental instruments.—Numerous cases have recently been brought to light in which slight wounds upon the hand, inflicted by instruments used in dental operations, also scratches of the finger on sharp roots, have resulted in infections of a most serious nature.

In the same category belong infections received through kisses, blows upon the teeth, bites, etc.

II.—The Pathogenic Mouth Bacteria.

The investigations of different bacteriologists during the last five years have brought to light a great number of pathogenic microorganisms, some of which occur in the mouth with considerable frequency, others having been met with but a few times.

Of those whose cultivation on artificial media has been accomplished, the following are the most important:—1, micrococcus of sputum septicæmia; 2, bacillus crassus sputigenus; 3, micrococcus tetragenus; 4, bacillus salivarius septicus; 5, streptococcus septopyæmiens; 6, micrococcus gingivæ pyogenes; 7, bacterium gingivæ pyogenes; 8, bacillus dentalis viridans; 9, bacillus pulpæ pyogenes; 10, the pyogenic micrococci; 11, actinomyces (rayfungus); 12, saccharomyces albicans (thrushfungus); 13, spirillum sputigenum; 14, Pane's pneumococcus; 15, bacillus saprogenes I.; 16, streptococcus salivarius pyogenes; 17, coccus salivarius septicus 18, micrococcus biskra;

19, bacillus bronchitidis putridæ; 20, bacillus tussis convulsivæ
21, bacillus pneumoniae; 22, bacillus pneumo-septicus.

Besides these a number of pathogenic bacteria have been met with in the human mouth, whose cultivation on artificial media has not succeeded.

Finally, various other micro-organisms of great importance as exciters of disease appear to be able to maintain themselves for a considerable length of time in the oral cavity, viz., the micro-organisms of syphilis, tuberculosis, diphtheria, hydrophobia, &c.

Method of examining saliva for pathogenic organisms.—On account of the large number of different micro-organisms commonly found in the human mouth, it is, with few exceptions, absolutely impossible to arrive at any conclusion regarding the presence or absence of any particular kind by a simple microscopic examination..

Cultures on agar-agar also often fail of their purpose, since many pathogenic mouth bacteria do not grow on this culture medium, or they grow so slowly that they are soon overgrown and hidden by the more prolific sappytes of the mouth. Gelatine is still less adapted to the purpose. We must consequently have recourse to the animal body for the purpose of isolating such pathogenic micro-organisms as may be present in the saliva at the time of the examination.

The person whose saliva was to be examined was always instructed to intermix the saliva, by rubbing with the tip of the tongue against the cheeks and gums, with dead epithelium and other films and deposits which are often clinging to the mucous membrane, and constantly carry enormous numbers of organisms. One or two of these drops were then injected into the abdominal cavity of a white mouse.

Of the 111 mice thus operated upon, 27 died within 15 hours; 22 in 15 to 24 hours; 18 in 24 to 48 hours; 8 in 2 to 4 days; 9 in 4 to 8 days; 13 in 8 to 20 days; 4 in 20 to 40 days; 10 being still healthy after the expiration of 30 days were put down as having escaped infection; though it is quite possible that one or the other of these 10, if kept longer under observation, would still have succumbed to the effects of the inoculation.

In nearly all cases where the mice died within five days, the cause of death was found to be acute peritonitis or blood-poisoning, or both combined, whereas in the great majority of cases where death did not occur till after five days, no micro-organisms were found in the blood, death being due to local suppurative processes alone. We may accordingly make two grand subdivisions of the pathogenic mouth bacteria. The first includes those which produce speedy death through blood-poisoning, with comparatively slight local re-action; the second, those which induce fatal pyogenic processes at the point of injection.

With very few exceptions, injections with the blood or peritoneal exudations of the deceased mice, produced the same results as injections with saliva.

In the 111 examinations above recorded, capsulated cocci or diplococci, which according to present usage would be called micrococci

of sputum septicæmia, were found in the blood of the mice 58 times, and apart from these cases three times in the peritoneal exudations, *i.e.*, in all 61 times.

Micrococcus tetragenus was found in all 26 times.

During the earlier experiments my attention was directed solely to the micrococcus of sputum septicæmia, and I may have overlooked other organisms, so that in all probability the other species mentioned in reality occur still oftener than indicated by my figures. Accordingly, the micrococcus of sputum septicæmia occurred 61 times. *Micrococcus tetragenus* occurred 28 times. *Bacillus buccalis muciferens* occurred 4 times. *Bacillus* of sputum-septicæmia occurred 3 times. *Bacillus buccalis septicus* occurred 6 times. *Bacillus pneumoniae* once.

Besides these, various other micro-organisms of pathogenic significance were met with (apart from the pyogenic ones), which I was not able to study more closely. Twice streptococci were found in the blood.

The Micrococci of Sputum-Septicæmia.

From the time that Pasteur discovered a deadly micro-organism of the form of the figure 8 in the human saliva, up to the present, developments regarding the nature and significance of this organism have followed each other in rapid succession. Besides Pasteur, Raynaud and Lannelongue, Vulpian, Morgiggia and Marchiafava, Bochefontaine and Arthaud, Sternberg, Claxton, Gaglio and di Mattei, Griffin, Klein, A. Fränkel, myself, and, more recently, scores of others have furnished contributions to the subject of the toxic properties of the saliva.

A great impulse was given to the study of this subject by the discovery by A. Fränkel that croupous pneumonia is caused by a capsule-bearing micrococcus, identical with or the same as the micro-organism observed by Pasteur and those following him. This observation has been confirmed by Weichselbaum, Foa, Bordoni-Uffreduzzi, Netter, and so many others, that at present few doubt the etiological connexion of the micrococcus of sputum septicæmia with croupous pneumonia.

The presence of small cocci or diplococci surrounded by a capsule or halo in microscopical preparations from the sputum is also pretty generally accepted as a means of diagnosing croupous pneumonia in doubtful cases.

It is, however, a fact that capsule cocci have been repeatedly found in connexion with a large number of different processes accompanying or independent of pneumonia. Thus, almost invariably in the emphysema of pneumonia, in pleuritis, endometritis diphtheritica, peritonitis, pericarditis, and endocarditis, in cerebro-spinal meningitis, serositis exudativa, otitis media, abscesses of the mastoid process, retropharyngeal abscesses, ozæna, rhinitis, eoryza, catarrh, &c.

Foa and Bordoni-Uffreduzzi even give expression to the possibility that the capsule coccus may be the cause of the rheumatic diseases.

In my investigations I have met with four different species of micrococci, all of which answer to the description of the micrococcus of sputum septicæmia, but show certain differences in form and growth which justify doubts as to their identity.

For the purpose of description only I call them micrococci of sputum septicæmia I., II., III., and IV.

Micrococcus of Sputum-Septicæmia I.

This micro-organism proved to be identical with the pneumo coccus Fränkel, of which Dr. Lehmann, assistant of Professor Fränkel, kindly furnished me a culture from a case of meningitis. Like the other members of this group it grows best on blood serum, forming slimy semi-transparent colonies about the size of the head of a pin, which by transmitted light bear a certain resemblance to minute drops of dew. Where the colonies flow together, along the track of the needle, they form a ridge with slightly elevated margins, which attains its maximum growth in one to two days.

On agar-agar it sometimes fails to grow altogether; at others it grows nearly as well as on blood serum, depending upon some slight difference or other in the constitution or re-action of the medium. In line-cultures it forms very small blue-gray semi-transparent colonies, which, where numerous enough to flow together, form a more grey opaque growth. Colonies beneath the surface of the Agar are gray-brown to yellow-brown, roundish, oval, or pointed, with irregular margins and thick black outline, which, however, is sometimes wanting.

Under a power of 200 to 250 diameters these colonies appear coarse, granular. Surface colonies under 50 to 75 diameters appear round, thin, slightly yellowish-gray towards the middle, colourless at the margins, which are slightly indented or uneven. The surface of the colony frequently presents numerous roundish vacuoles, better seen with a higher power, which give the colony somewhat the appearance of a tissue. A power of 200 diameters readily shows diplococci singly or in two's at the margin of the colony. No growth occurs on gelatine under ordinary conditions. In the blood and tissues the diplococci are invariably surrounded by a halo; staining in the ordinary methods for capsules usually reveals a capsule. The diplococci are distinctly elongated, more or less pointed, and often present the appearance of bacilli. They may vary considerably in size in different tissues, and in different cultures.

On agar-agar the elongated form of the cells is particularly pronounced.

Mice injected with the blood or fresh cultures in the abdominal cavity die in about 15 hours; injected subcutaneously, in about 24 hours; vaccinated in a skin pocket at the root of the tail, in 36 hours to 5 days; occasionally they survive the infection. Rabbits and guinea-pigs are likewise susceptible, dogs immune.

The symptoms are too well-known to require description. The micro-organisms are found in the blood and all the organs. The lungs

often present a dark red appearance in toto, or only in circumscribed portions; at other times they are ash-gray. Occasionally, appearances are present indicative of a beginning hepatisation. The skin almost invariably cyanotic.

Micrococcus of Sputum-Septicæmia II.

It grows under the same conditions as I., but the growth is usually more extensive. On blood serum it forms a grey, slimy, semi-transparent growth, presenting much more nearly the dewdrop appearance than I. Confluent colonies often form masses $1\frac{1}{2}$ to 2 mm. in height.

On agar-agar the colonies are seen (under a power of 100 to 200 diameters) to be made up of long threads of cocci and diplococci; the vacuoles present in I. are here wanting. Characteristic for this species are the formation of capsules on artificial media (blood serum as well as agar-agar), the constant presence of long chains, and the sliminess of the growths on agar, as well as in the peritoneal exudations of animals infected with this organism.

The cocci and diplococci in the blood, as well as in the cultures, are also usually less pointed than those of I.; in fact, they sometimes appear quite round.

The hyperæmia of the lungs and cyanosis are wanting.

Micrococcus of Sputum-Septicæmia III.

This organism presents many points of similarity with I., but sufficient differences to entitle it, in my judgment, to be considered as a separate though nearly allied species. On agar its colonies present an entirely different appearance from those of I.; the vacuoles are missing, and the surface appears as if made up of innumerable small hexagons, producing a certain resemblance to *pleurosigma angulatum*. The cells, both in the blood and tissues of animals, as well as on artificial media, are more plump and rounded than those of I.; there are also slight macroscopic differences in the growths of I. and III. In other points they do not present differences requiring particular mention.

Micrococcus of Sputum-Septicæmia IV.

This micro-organism is long and pointed, but much smaller than I. This difference alone would, of course, not justify the conclusion that it is not the same as I. My reasons for looking upon this organism as a distinct species are to be found in its action upon mice. I have met with it but once during my investigations. The mice vaccinated with the saliva containing it died inside of 24 hours, and mice vaccinated with the blood of these died inside of 30 hours. The next generation of mice did not succumb till after five days, then followed nine days, while all subsequent vaccinations turned out negatively. In other words, the virulence of the micro-organism rapidly decreased on passing it through the body of mice. In this respect *micrococcus of sputum-septicæmia IV.* differs so decidedly from the other micro-organisms of

the group as to justify making an independent species of it. I think there is no doubt about I., II., and IV., constituting separate species, but as to whether the differences noted between III. and I. are sufficiently marked and constant to entitle the former to an independent position, opinions will probably differ.

The different species described present so many points of similarity, and withal are so subject to slight variations in form and growth, that the question of differentiating between them becomes exceedingly difficult.

I am unable to say whether the forms II., III., and IV. have any connexion with croupous pneumonia and its sequels. Banti (Arch. di Anat. norm. e patol. 1890, Vol. I. Abstract in Centralbl. f. Klin. Med., 1891, No. 18) describes four species of nearly allied micrococci, all of which are capable of exciting pneumonia. B. has named them *Diplococcus pneumoniae* I., II., III., and IV. Foa (Deutsche, med. Wochenschr. 1889, No. 2, also inclines to the view that there are at least two species of pneumococci.

Bacillus Buccalis Muciferens.

I have given this name to a micro-organism which I found four times in the blood, in form of thick, short rods, surrounded by a capsule or halo, while on artificial media the predominating form is the coccus. It grows well on the ordinary media, on agar-agar, very rapidly forming a semi-transparent slimy paste, very much like starch.

Ridges 6 to 8 mm. wide and 1 to 2 mm. high may be formed in 24 hours.

In dilution cultures on gelatine it appears in 40 hours as dark gray colonies, almost or quite round, distinctly granular, as if made up of an infinite number of little spheres or mosaics. Each colony also shows a number of bright shining spots on the surface. On potato it appears in 24 hours as a grayish white moist growth with indented border.

In three to four days the growth takes on a yellowish colour, appears semi-transparent while retaining its moist surface.

In cultures on agar-agar in particular the separate cells are surrounded by thick capsules or sheaths, which give to the cultures their slimy nature. The slime dissolves very slowly in most of the ordinary solvents. Weak solutions of alkalies and acids, also solutions of peroxide of hydrogen slowly disintegrate the mass without apparently dissolving it. Glycerine in one case cleared it up, in another case not (the culture in the former case was 24 hours old, in the latter four days). It is precipitated or coagulated by alcohol and 5 per cent. solutions of bichloride of mercury, slowly dissolved by 1 per cent. solution of caustic potash, 2 per cent. leaves a flaky precipitate. The insolubility of the sheaths renders the divitalization of the cocci by ordinary means very difficult.

Mice infected with the micro-organism in the abdominal cavity die in 15 to 30 hours with varying numbers of bacilli or cocci in the blood and all the organs. In the peritoneal cavity slimy exudations mixed

with puscorpuscles and vast numbers of bacilli, spleen much enlarged, jelly-like exudation as large as a shilling at the point of injection. Subcutaneous injections cause death in one to three days. Guinea-pigs likewise susceptible; rabbits not sufficiently tested.

Bacillus of Sputum-Septicæmia.

This organism was found in the blood three times. It bears a close resemblance to the foregoing species, though it is undoubtedly distinct. In the blood, as well as in cultures on artificial media, it occurs in form of thick bacilli, occasionally growing out into threads.

In the former situation, as well as on agar-agar, or blood serum, it is provided with a sheath, which readily takes on staining matters. It grows exceeding well on the ordinary media. In agar it forms a paste similar to *Bacillus buccalis muciferens*, which is, however, distinctly less viscid; it also grows somewhat more rapidly than *Bacillus buccalis muciferens* and has a milkish grey white colour by transmitted light in contradistinction to the bluish colour of *Micrococcus buccalis muciferens*.

Cultures in bouillon develop rapidly, and, on shaking, send up a shower of minute bubbles, which continue to ascend for half to one minute, and form a foam on the surface. In this respect it again differs from the foregoing species. On gelatine the colonies appear in 40 hours, as very dark, perfectly round, dense, granular bodies, with sharp outline; under high power they look like mosaic-work.

On potato extensive growth in 24 hours, cream-coloured, and moist in the middle, drier and strongly indented towards the border, and in colour scarcely to be distinguished from the potato. In 48 hours beautiful growth, margins indented and raised; after three or four days opaque, slimy, dirty growth.

The paste formed by growths on agar dissolves slowly in three per cent. peroxide of hydrogen, less slowly in weak alkalies.

The cells possess no motion. Spores not observed. Multiplication only by fission. Stain readily, but lose colour after treatment with Gram's method.

Bacillus of sputum-septicæmia is pathogenic for mice, guinea-pigs, and rabbits (other animals not tested). Symptoms similar to those produced by *Bacillus buccalis muciferens*. The micro-organisms are found in large numbers in the blood and organs, extensive fibrous exudation and œdema at point of injection, tumour of spleen, &c.

Bacillus Pneumoniæ (Pneumobacillus).—More commonly known as *Micrococcus pneumoniae* (Friedländer), need not be described at length, since it may be found in different works on bacteriology, which must be in the hands of most dentists and physicians. It is intensely pathogenic for mice; rabbits are immune. There is a certain resemblance in shape and size between the cells of the pneumococcus and the pneumobacillus; it is to me, however, inexplicable how anyone

could for that reason pronounce the two species identical, while the one (*pneumobacillus*) grows readily on gelatine, the other not at all.

Bacillus Buccalis Septicus.—In six cases out of the 111, the presenee of this micro-organism was established by inoculation, as well as by pure culture. In other cases a bacillus was found which in shape and colour re-action appeared identical with it, though its identity was not really established by the appropriate tests. Besides this, the bacillus in question was found in the pus of an abscess resulting from a wound by a dental instrument.

It occurs in form of rods, often slightly pointed at the extremities, sometimes growing out into long threads. It has no forward or backward motion, but a rotatory movement about an axis vertical to its length. It grows well on ordinary culture media, even at room temperature, better still at 30° to 37° C.

On gelatine it forms in two days round or nearly round colonies, with not quite clearly defined margins, homogenous, or very slightly granular, gray or faintly yellowish gray. Surface colonies are very thin, bluish, traversed by numerous cracks or fissures, margins indented. In line cultures it grows rapidly, forming beautiful indented velvety grayish white ridges. On agar-agar the colonies develop rapidly, attaining a diameter of 1 to 2 mm. in 24 hours.

On potato, moderate development in 24 hours, centre moist and gray, border dry, indented, visible only on close observation. In 48 hours the growth is distinctly visible, borders raised and clearly defined. In 72 hours moist, thick growth, viscid dirty yellow with a tinge of pink.

On blood serum it forms ridges 1 to 1½ mm. wide and ½ mm. high of slightly yellowish white colour. Young cells stain readily, old ones with great difficulty. Often certain zones or points of the rods remain unstained.

Three rabbits were injected with 0.5 cc. of a pure culture in bouillon, one in the abdominal cavity, one intravenous, and one subcutaneously. The first was dead in 15 hours; the second in 35; the third in 45 hours, with symptoms of acute septicæmia, large numbers of bacilli in the blood and in the organs, spleen tumour, &c.

White mice and guinea-pigs were likewise susceptible.

Cultures on artificial media soon lost their virulence.

The loss of virulence of the Sputum Cocci.—Most observers agree that the micrococci of sputum septicæmia speedily lose their virulence when cultivated on artificial media. Ten days, seven, even five days are named as the maximum time for which the cocci remain virulent when cultivated on agar-agar, blood serum, &c. The results which I have obtained do not quite accord with the above.

A culture of the micrococcus of sputum septicæmia II. from the blood of a mouse, on blood serum, dated May 6th, which was kept for seven days at a temperature of 35° C., subsequently at room-temperature, was used for inoculating a mouse in the abdominal cavity on the 7th of June. The mouse died inside of 20 hours, showing a pure culture of

the cocci in the blood. A culture of micrococcus II., 29 days old, caused death in 65 hours; a culture 40 days old failed to produce any effect.

The cocci were found exceedingly resistive to the action of low temperature; a mouse, dead of an infection with micrococcus II., was hung up outside of the window for 21 days, between 22nd December and 13th January, the temperature ranging during nearly the whole time between 5° and 15° C. below zero. At the end of this time the mouse was thawed out, and an infection made with the blood resulted in the death of the infected animal inside of 24 hours.

Experiments relating to the question of immunity.—It has been well established that immunity may be conferred upon animals by infecting them with material which has been so far weakened in its virulence that the animals sicken, but recover. A subsequent infection, even with a fully virulent culture, may then be harmless. I have attempted to produce immunity (1) by injecting 0,5 ccm. of dog blood direct from the artery into the abdominal cavity of mice. Dogs being immune from sputum septicæmia, it was hoped thereby to confer immunity upon the mice. All experiments with dog blood, however, turned out negatively. The blood of a large American rabbit, which had been infected without showing any re-action, conferred a partial immunity upon mice, they not dying until the fifth or seventh day after infection, while the control mice died within 24 hours; (2) mice were fed for several days on large quantities of saccharine with a view to so saturating them with this material that they would not furnish a suitable culture medium for the cocci; results here also only negative; (3) a large number of antiseptic solutions were made use of, injecting the mice before or after, or both before and after the infection in the abdominal cavity, or subcutaneously with varying results, sometimes the death of the animal being hastened, sometimes slightly retarded. The only substance with which I attained positive results was a 1 per cent. solution of trichloride of iodine. If we inject a mouse subcutaneously with two drops of the water of condensation from a fresh agar-agar or blood serum culture, or with a slight quantity of diluted infectious blood, and follow up the injection through the same canula with 0,3 ccm. of a 1 per cent. solution of trichloride of iodine (the maximal dose for a full-grown mouse), the animal will in most cases survive the infection, though it will lose a piece of skin as large as a finger-nail.

III.—*Prophylaxis.*

The question to which I wish here to call particular attention concerns the measures which should be taken to prevent the undue growth of bacteria, pathogenic as well as non-pathogenic, in the mouth; the ultimate object being not alone to limit as far as possible the action of micro-organisms and their products upon the teeth, but to keep within bounds as well the many various diseases which, we have seen, may result from a lack of proper care of the mouth.

Not one of the many mouth washes with which the market is flooded makes even an approach towards accomplishing this end. For the purpose of disinfecting the mouth in cases of acute diseases, stomatitis, diphtheria, gangrene of the mouth, etc., physicians usually have recourse to borax, boracic acid, chlorate of potash, permanganate of potash, lime-water, salicylic acid, etc., which, with the single exception of salicylic acid, have next to no action whatever upon the bacteria of the mouth, though some of them undoubtedly have an excellent cleansing action upon inflamed or suppurating surfaces, in virtue of which their use may be attended by very beneficial results.

In order to arrive at results of the greatest practical value it is necessary to test the action of the solution upon the bacteria in the mouth itself, and not upon pure cultures in bouillon. The latter method, while it allows us to determine with great precision the comparative action of various antiseptics, gives results which are too favourable to the latter.

Method I.

The mouth being rinsed for about 10 seconds with the antiseptic in suitable strength, the latter is evacuated into a sterilised glass vessel, and the time determined by the ordinary methods which elapses till the liquid becomes sterile.

Tests made with nearly all the available antiseptics of the dental pharmacopœa gave the results indicated in the following table. These tests were made mostly on my own saliva, which is moderately difficult to sterilise. I have found considerable differences in the time required for sterilising the saliva of different persons.

Sublimate 1 : 2,000 (8 tests) effected a marked diminution in the number of germs in one minute, the complete sterilisation, however, required on an average over five minutes. The efficacy of the sublimate was increased in a surprising degree by the addition of benzoic acid.

Trichloride of iodine 1 : 2,000 (7 tests) required an average time of about $1\frac{1}{4}$ minute, proving to be decidedly superior to the bichloride. It is also far less disagreeable than the latter, in fact, not at all disagreeable; it has, however, which must be considered as a great misfortune, an acid re-action, and is, therefore, not suited for daily use as a mouth wash. In the strength of 1 : 1,500 (1 test) the sterilisation was accomplished in 40 seconds.

<i>Benzoic acid</i> 1 : 300 (4 tests)	required 2 to $2\frac{1}{2}$ minutes time.
<i>Hydronaphthol</i> 1 : 1,500 (2 tests)	„ over 15 „
β <i>naphthol</i> 1 : 1,500 (1 test)	„ „ 10 „
<i>Lysol</i> 1 : 200 (4 tests)	„ „ 5 „
<i>Carbolic acid</i> 1 : 100 (1 test)	„ „ 5 „
<i>Boric acid</i> 1 : 50 (1 test)	„ „ 11 „
<i>Sulphocarbolate of zinc</i> 1 : 250 (1 test)	„ „ $7\frac{1}{2}$ „
<i>Liq. alumin. acet.</i> 1 : 20 (1 test)	„ „ 5 „
<i>Alumin. acet. tartar.</i> 1 : 60 (1 test)	„ „ 5 „
<i>Thymol</i> 1 : 2,000 (1 test)	„ „ $5\frac{1}{2}$ „
<i>Peroxide of hydrogen</i> 4 : 100 (3 tests)	„ „ 6 „

<i>Thallinum sulphuric</i> 1 : 1,000	required over 6½ minutes time.
<i>Saccharine sat. aq. sol.</i> (2 tests)	„ „ 10 „
<i>Saccharine sat. alc. sol.</i> 1:400 (2 tests)	„ „ $\frac{3}{4}$ -1 „
<i>Soluble saccharine</i> 1 : 120 (1 test)	„ „ 5 „

The slight action of the aqueous solution of saccharin compared with the powerful action of the alcoholic solution is accounted for by the slight solubility of saccharine in water.

<i>Oil of eucalyptus</i> 1 : 625 (1 test)	required over 8 minutes time.
<i>Engenol</i> 1 : 750 (2 tests)	„ 10 „
<i>Oil of cinnamon</i> 1 : 400 (2 tests)	„ 8 „
<i>Oil of cloves</i> 1 : 550 (2 tests)	„ 11 „
<i>Oil of larch</i> 1 : 360 (2 tests)	„ 19 „
<i>Oil of wintergreen</i> 1 : 350 (2 tests)	„ 12 „
<i>Oil of peppermint</i> 1 : 600 (2 tests)	„ 11 „
<i>Eau de Botôt</i> (4 tests)	„ 15 „
<i>Eau de Pierre</i> (3 tests)	„ 11½ „
<i>Oil of cassia</i> 1 : 300 (2 tests)	„ 30 „
<i>Salicylic acid</i> 1 : 300 (2 tests)	„ $\frac{3}{4}$ -1 „

An examination of the above results will soon convince us that there are very few substances at present in the dental materia medica which are available for disinfecting the human mouth.

The bichloride of mercury is much restricted in general use by its exceedingly disagreeable taste, and by the possibility of a deleterious action upon the health when used daily for a greater length of time. The trichloride of iodine is hampered by its acid reaction, which restricts its use to acute infectious diseases of the mouth or throat. Salicylic acid labours under a similar ban. We have accordingly only saccharin and benzoic acid left from which to construct antiseptic mouth washes *for daily use*, since a substance which requires over five minutes to devitalize bacteria cannot be expected to accomplish much in the short time during which a mouth wash is kept in the mouth. We may make an exception, however, in favour of the peroxide of hydrogen, which, on account of its non-poisonous and non-irritant character, may be used more frequently and kept longer in the mouth than the great majority of other antiseptic liquids.

A mouth wash which I recommended years ago, and which is decidedly superior to the best of the many so-called antiseptic mouth washes on the market, has the following construction :—

R	Acid. benzoic	-	3, 0
	Tinct. Eucalypt.	-	15, 0
	Alcohol. abs.	-	100, 0
	Ol. menth. pip.	-	0, 75

For the last year I have been making experiments with saccharin, which manifests a very remarkable action upon the bacteria of the mouth. It appears also to be one of the least poisonous of the substances recommended for the treatment of the oral cavity, and has no deleterious action upon the teeth. Its greatest drawback is its intense sweetness, which to some persons renders it very unpleasant. It is not, however, the sweetness of sugar, saccharin not belonging at all to the sugars, or even to the carbo-hydrates.

These results certainly indicate a very powerful antiseptic action on the part of the wash. In experiments 1-7 only 20 ccm., of the wash were used, in the following 30 ccm., which accounts for the more favourable results in the later tests. Each time three ccm., of the wash were added to 27 ccm. water (or 2 to 18), and kept in the mouth a full minute.

The sublimate-benzoic acid mouth wash referred to in the table contains 0.8 bichloride of mercury, the other constituents being the same as those given in the first formula.

Method III.

A third method consists in injecting mice with the saliva of persons in whom it is known to be virulent, before and 15 minutes after rinsing. Eleven tests of this kind were made, and although the mouse injected before rinsing died in every case inside of 36 hours of sputum septicæmia, there was not a single case in which the mouse injected after the rinsing died of septicæmia. I was not able, however, to obtain such marked results over the pyogenic mouth bacteria. This again shows an action upon the micrococci of sputum septicæmia, pneumococci, &c. which might be taken advantage of as a prophylactic measure in acute infections of the mouth, in pneumonia, &c.

In conclusion, I may therefore mention as antiseptic mouth washes trichloride of iodine, 1:2,000 to 1:1,500; bichloride of mercury, 1:2,000, in conjunction with benzoic acid, 1:300; salicylic acid, 1:300 to 1:250; benzoic acid, 1:300 to 1:250; saccharin, 1:400, preferably in combination with benzoic acid. The trichloride of iodine and bichloride of mercury are restricted to occasional use, particularly the trichloride should be used with care; salicylic acid must likewise be kept under observation; saccharine has a disagreeable taste; only benzoic acid appears to suffer from no pronounced undesirable qualities.

Dental Caries.*

BY

HENRY SEWILL, M.R.C.S., L.D.S., Past President Odontological
Society of Great Britain.

Dental caries or decay is a process of disintegration commencing invariably at the surface of the tooth, and due entirely to external agents. Caries traceable to the same series of causes, remote and direct, and accompanied by similar tissue changes, occurs in teeth and in blocks of ivory re-fixed in the mouth by artificial means. By subjecting

* Abstract of remarks accompanying lantern demonstration.

extracted teeth to the action of the same agents under the same conditions as to temperature, moisture, and presence of micro-organisms as exist in the mouth, caries can be artificially produced which is indistinguishable from that occurring in living teeth.

The active agents in caries are acids and micro-organisms. The great bulk of acid is the product of fermentation of the organic matter commonly present in the mouth and lodged around the teeth. These acids are often assisted in their action by acid secretions. Fermentation being due to the action of micro-organisms, bacteria must be considered a prime factor in the causation of caries. Proliferation of organisms amidst the fibrils and in the organic basis of the dentine is an essential feature of the disease.

The predisposing causes of caries are: (1) inherent defects in enamel which render the tissue at parts, or throughout, easily acted upon by acids; (2) crowding and irregularity of the teeth which give rise to retention of debris on their surfaces; (3) vitiation of the buccal secretions. The first and second of these causes govern the incidence of decay. The rapidity of progress of caries is mainly governed by the inherent qualities of the tissues. These vary extremely.

Slides were then exhibited, showing:—

1. Section of normal enamel. 2. Section of normal dentine.
3. Transverse section of normal dentine. 4. Section of tooth showing inherent defects in enamel and dentine. 5 and 6. Sections of enamel showing inherent flaws. 7. Section of dentine showing inherent structural defects. 8. Section of carious dentine at orifice of cavity of decay. 9. Deeper section of same tooth. 10. Section showing point of junction of carious and unaffected dentine. 11. Section of dentine in last stages of caries; tubes filled mainly with cocci. 12. A similar section, tubes filled with leptothrix. 13. Transverse section of carious dentine in advanced stage. 14. Scrapings from carious cavity showing various organisms. 15. Section of "pipe stem" dentine.

Prophylaxis of dental caries is to be accomplished by prevention of the predisposing causes. Production of faultless dental tissues can only be brought about by improvement of the race and of the *hereditary* qualities of the individual. Little or nothing can be done to influence the structure of the teeth in the individual after birth, or in the fœtus through the mother. Crowding and irregularity of the teeth are due to smallness and malformation of the maxillæ, a characteristic of civilisation. Vitiation of the secretions of the mouth is to be prevented by the maintenance of a high standard of health and by local hygiene.

Sections were exhibited under the microscope showing various phases of—(1.) Ordinary caries. (2.) Caries in teeth worn on a frame as artificial substitutes. (3.) Caries artificially produced in extracted teeth.

DISCUSSION.

Professor Bäumler (Freiburg in B.) remarked that the questions raised by Dr. Miller's researches had a much wider scope for practical and preventive medicine than would at first sight appear. Dr. Miller had shown us that the month teems with various forms of low vegetable life, including forms that are capable of inducing local and general sepsis, and from Dr. Ruffer we have just now had a demonstration of some of the means by which the organism is protected against their action. Dr. Ruffer had shown that as long as the structures of the mucous membrane and of the tonsils were healthy, bacteria and other particles were constantly taken up by lymph-cells, and were rendered by them innocuous, although they are carried into the depth of the tissues.

Now, if, on the contrary, the epithelium and the upper layers of the mucous membrane of the buccal and pharyngeal cavities are damaged, there arises, at once, the possibility of infective bacteria acting on, and multiplying in, the tissues, or of being taken up by the lymphatics, or even penetrating into the blood vessels. Not only local inflammation, causing abscesses or alveolar necrosis, as had been mentioned by Dr. Miller, may be the result, not only may the inflammation spread to adjoining structures and cavities, causing parotitis or otitis, but even general sepsis and pyæmia may be started by the entrance of certain bacteria into the vascular system.

In order that such dangerous consequences may be brought about the defensive means of the organism mentioned by Dr. Ruffer must be weakened, and a local predisposition to the action of the bacteria that are always or occasionally present in the month must have been established; and this is very frequently the case in otherwise healthy, but much more so in sick individuals, who by some impediment in their nasal passages, or in consequence of febrile exhaustion, are in the habit of breathing, or may be obliged to breathe, through their mouths. It is more especially in fevers that such dangerous consequences may be brought about, by the mucous membrane of the tongue and the soft palate, as well as that of the back of the pharynx and of the upper part of the larynx, becoming dry and fissured. What we call "sordes" in the mouth of febrile patients is nothing else than the accumulations on the tongue, and the other parts mentioned, of the impurities of the inhaled air and the inflammation of the mucous membrane caused by bacteria having entered into, and growing in, those fissures. Professor Bäumler had seen erysipelas originate in that way in the pharynx, and he mentioned the work of Dr. Massei, of Naples, on erysipelas of the larynx. He had further seen in bad cases of typhus or typhoid fever, as well as in other febrile diseases, pyæmia and septicæmia originate from fissures in the mouth and throat, brought about by the drying up of the mucous membrane after the patients had some days been breathing with their mouths open. In fact, not a few of the secondary inflammations which occur in the diseases mentioned, and which are a frequent cause of the mortality in these diseases, are due to this source.

Having regard to this danger it becomes imperative in the treatment of such patients to see that, by all means, the mucous membrane of the mouth and throat be kept moist and as clean as possible.



The Behaviour of Bacteria in the Small Intestine of Man.

BY

ALLAN MACFADYEN, M.D., Edinburgh.



I purpose giving a short account of an investigation carried out by Professor Neneki, Dr. Sieber, and myself upon a patient in Berne Hospital. The case we had to deal with was, so far as we knew, an unique one. We endeavoured to make our investigations as exhaustive as possible; they extended over the six months the patient was in hospital. The facts we were able to bring out were in many respects new, and tend still further to elucidate the chemical processes in the small intestine of man—a portion of the digestive tract normally shut off from direct investigation. It may, therefore, not seem out of place if we take the opportunity of laying our results before the members of this Section of the Congress. I shall only be able to give a general survey of the investigation, but I will endeavour to bring out the salient points and to state briefly those facts which seem to us of first-rate importance. In May 1890, a woman with a strangulated hernia was admitted into Berne Hospital. Professor Koehler, in whose wards she was, found the strangulated portion of intestine to be gangrenous, and the surrounding tissues acutely inflamed. The gangrenous piece was therefore excised, and an *anus praeternaturalis* established. The excised piece was the portion of the ileum opening into the caecum. After the operation the patient made a good recovery. She was kept in hospital six months, and during that time was in good general health, enjoyed her food, and increased in weight. After re-uniting the upper and lower portions of gut she was discharged as cured. During the six months of her stay in hospital, the large intestine was completely cut off from the rest of the digestive tract; the food, instead of passing into the caecum, flowed out through the fistula, and the discharge of 24 hours was handed over to us daily for investigation. There was no doubt as to where the fistula was, or that the discharge was the food-mass after it had passed through the entire length of the small intestine. We were therefore able to examine the food-mass after the stomach and small intestine had finished their work, and the undigested and unabsorbed remainder was ready for discharge into the caecum. Apart from the purely chemical investigations, it was our special endeavour to isolate the bacteria present in the normal small intestine, and to study their action on proteids and carbo-hydrates. In this way we hoped to be able to determine their relation to the digestive processes, and generally their function in the small intestine. With these ends in view, portions of the contents of the small intestine were from time to time specially collected for bacteriological investigation. Three series of experiments were made:—

1. Whilst the patient received a meat diet.
2. During a diet mainly vegetable.
3. Once more during meat diet.

Plate cultures were made, aërobie and anaërobie, and a series of bacteria isolated in pure cultures. It is not the purpose of this paper to give details with regard to the morphology of the bacteria in the digestive tract, but the following general observations deserve notice here. The contents of the small intestine were always crowded with micro-organisms, and all forms were represented, viz., fungi, yeasts, and schizomycetes. After a lapse of time and with a change in diet, the bacteria also changed. We found the bacterial forms in the small intestine to be in a constant state of change, and the picture presented was an ever varying one. Forms to be described as constantly met with could not be said to be present, as, for example, seems to be the case in other parts of the digestive tract. In the large intestine, the *bact. coli commune* is a well-known and easily recognisable form constantly found, and may be said to be localised there.

Further, genuine anaërobie forms were not found. The bacteria isolated were facultative anaërobie.

It is specially noteworthy that putrefactive bacteria were not present on the plates we made. They do not seem to find in the small intestine the conditions favourable to their growth and development. This is most probably due to the fact, repeatedly controlled by us, that the contents of the normal small intestine have not an alkaline but an acid reaction. During the six months the patient was in hospital this was the case, except on one occasion, when the reaction was neutral, but, I repeat it, never alkaline. This normal acidity we found to be due to organic acids, and chief amongst these, acetic acid.

The average acidity, estimated as acetic acid, was 1 per 1,000; at times 1.5—2 per 1,000. This acidity would undoubtedly tend to weaken and even stop the growth of those bacteria which require an alkaline or neutral soil for their development, notably the putrefactive bacteria. On account of the acid reaction of the intestinal contents, the decomposition of proteids by putrefactive bacteria would be likely to be hindered or, at any rate, greatly lessened.

As regards the presence of the organic acids, their formation might be ascribed to a decomposition of the carbo-hydrates of the food.

The chemical examination of the intestinal contents would help us in deciding these points, and to this we first directed our attention. The reaction of the discharge was, as I have said, acid; the odour might be compared to that of pickles. It had only at times a faintly putrefactive odour. These two facts were, at the outset, against the assumption of any active decomposition of proteids by the bacteria in the small intestine. It was, however, possible that whilst the final products of the putrefactive decomposition of proteids might be absent, viz., indol skatol, &c., the first decomposition products might be present, *e.g.*, the amido and aromatic acids. The discharge was therefore directly examined for these products. The intestinal contents, about one kilo. at a time, were, in the first place, distilled. As regards gases, besides CO₂, only traces of H₂S were found. Methylmercaptan was not present. In the first portions of the watery distillate neither indol nor skatol were detected, only Millon's reagent on heating gave a faint red

colour. The characteristic products of the putrefactive decomposition of proteids were therefore absent or only present in traces. That traces of indol were at times present was proved by the presence of indoxyl in the urine. The almost complete absence of these bodies led us to seek for the primary hydration products resulting from the disintegration of proteids, viz., leucin and tyrosin. We found, however, chiefly peptones and dextroses, but neither leucin nor tyrosin. These bodies, even if produced during pancreatic digestion, must be present in small amount and quickly absorbed.

On the other hand, we were able to isolate from the contents of the small intestine genuine products of the decomposition of carbo-hydrates, viz., succinic acid, acetic acid, and the optically active and inactive lactic acids.

These preliminary investigations seemed, therefore, to point to the fermentative changes in the small intestine being mainly of carbo-hydrates, and *not* of proteids. Seven representative bacterial forms were next submitted to a bacteriological chemical investigation. We selected those most constantly present on the plates made at different times and during different diets. Of the seven bacteria, two closely resembled forms described by previous writers, viz., a bacterium, named by us *Bact. Bischleri*, closely resembled the *bact. coli commune*; another resembled, and was probably identical with, the *Bacter. lactis aërogenes* of Escherich.

Flasks containing finely minced meat, and flasks containing a 5 per cent. solution of grape sugar, were inoculated from pure cultures of the respective bacteria, and incubated at 38° C. The chemical investigation yielded the following results:—The flasks containing the meat remained unaffected; there was no apparent disintegration of the albumen, except in one case where a small portion became dissolved.

On the other hand, there was an almost complete fermentation of the sugar in all cases. In one instance, that of a streptococcus, the product was almost solely pure lactic acid. This micro-organism, if present in numbers in the small intestine, would be particularly fitted to produce the lactic acid fermentation of sugars. The decomposition products of the sugar by the seven bacteria were as follows:—

1. The gases consisted of CO₂ and hydrogen.
2. The acids were acetic acid, succinic acid, and the two lactic acids, the optically active and the inactive. It is interesting to note that the optically active paralactic acid is formed in the small intestine, and that there it is a bacterial product. Three of the seven micro-organisms formed from sugar the dextro-rotatory paralactic acid.
3. Alcohol was also formed by all the bacteria in greater or less amount. It proved to be æthyl alcohol. In one case, that of the *bact. ilei*, the amount of alcohol produced was equivalent to as much as 16 per cent. of the weight of the sugar. Thus it seems that in our bodies alcohol is constantly being produced by the bacteria of the digestive tract. I show here a sample of the alcohol formed in this case by the *bact. ilei*.


It will be seen that these results agree with the results of the chemical investigation of the intestinal contents. We were not able to isolate from the discharge any of the decomposition products of albumen, viz., leucin, tyrosin, indol, skatol, phenol, &c., and the intestinal bacteria, with one exception, did not produce any noticeable disintegration of albumen outside the body.

On the other hand, we found and isolated from the intestinal contents succinic acid, acetic acid, and the two lactic acids, all genuine decomposition products of carbo-hydrates. The intestinal bacteria produced outside the digestive tract these same products. Their presence in the small intestine is due to the action of bacteria on the dextroses present there. We always found sugar in the small intestine. The amount varied from 0·3–4·75 per cent. On the day we found the maximum amount of sugar, 4·75 per cent., the acidity of the discharge also reached its maximum, viz., 0·21 per cent. To sum up shortly, the one great characteristic feature of the bacteria in the normal small intestine is their fermentative action on *carbo-hydrates*.

Not finding constant forms localised there, as is the case with the *bact. coli commune* in the large intestine, this *physiological* characteristic may be taken as their great distinguishing feature. The physiological characteristic of the bacteria of the *large* intestine is their decomposition of proteids. Any marked decomposition of proteids will take place in the large intestine, where, in addition to the favouring alkaline reaction, the bacteria remain longer than they do in the small intestine. Whilst we failed to isolate putrefactive bacteria from the small intestine, we always succeeded in doing so from the large intestine. In the small intestine the constant acid reaction limits the activity of all the bacteria, and especially inhibits the development of putrefactive micro-organisms. That this is due, in the first place, to the organic acids of the food was proved by direct experiment. The bacteria isolated from the small intestine grew well in gelatine containing 2 per cent. of bile, but did not grow in neutral meat broth to which had been added 1 and 2 per mille of acetic acid. With regard to the bacteria described by other observers, only the *bact. lactis aërogenes* of Escherich was found by us in the contents of the small intestine. The bacterium which morphologically closely resembled the *bact. coli commune* was proved *not* to be identical with the latter. As it is, so far as I know, the first time that a strictly chemical test has successfully been employed to distinguish between bacteria closely resembling one another morphologically, the subject deserves a few words. The bacterium from the small intestine and the *bact. coli commune* were given to Dr. Bischler for bacteriological chemical investigation. He studied their action on grape-sugar. Both ferment sugar, and both produce lactic acid. But whilst the bacterium from the small intestine formed the ordinary optically inactive lactic acid, the *bact. coli commune* formed the active dextro-rotatory paralactic acid. Thus two bacteria, morphologically apparently identical, were by the above chemical test proved to be dissimilar. Lately Dr. Schardinger, in Vienna, discovered a bacterium which produces out of sugar the *levo*-rotatory lactic acid. We have, therefore,

here three bacteria, each producing a different modification of lactic acid. This may supply us with a useful test when we are in doubt as to the identity of two micro-organisms. It would, for example, be interesting to investigate the behaviour of the various comma bacteria in this respect, and also the various bacteria associated with udder diseases of cows. One might also start from the lactate of lime, which, according to Fitz, is capable of four different fermentations.

The researches we have made seem to answer the question first suggested by Pasteur, as to the necessity of bacteria in addition to the digestive ferments, for the preparation of the assimilable foodstuffs necessary for the support of life. His opinion was that life without bacteria would be impossible. This certainly is the case as regards plants, but with regard to animals our experiments tend to prove that at any rate for man they are not necessary. The food in passing from the stomach to the small intestine does not become neutral or alkaline, but retains its acid reaction down to the ileo-caecal valve. As a result of this acid reaction, a decomposition of proteids by bacteria does not take place, or only does so at intervals and to a very slight degree. The decomposition of the food in the small intestine is limited to the carbohydrates, whereby the products already described are formed. These products cannot be regarded as necessary for the support of life. It is rather a loss to the organism that a part of the dextrose formed by the pancreatic enzyme is not absorbed, but serves as food for the parasitic bacteria of the digestive tract. Further, any marked decomposition of proteids first takes place in the large intestine. This portion of the intestine was, in the case of our patient, shut off during six months from any participation in the digestive processes, and that without detriment to her health. It seems, therefore, proved that *without* the aid of bacteria our digestive juices can transform the food, fit it for absorption, and the sustenance of life. It is an advantage for normal digestion that in the upper part of the digestive tract the activity of the bacteria is controlled by the constant acidity that prevails, and that thereby the consequent loss of food is kept within certain limits. In abnormal conditions the reaction may become alkaline and a decomposition of proteids then takes place, whereby products injurious to the organism arise. These products are formed in smaller or greater quantity in the large intestine under normal conditions, viz., indol, skatol, methyl-mercaptan, methan, &c. They are useless for the human economy, and, if in large amount, may prove injurious. Indeed, it is probable that the ideal course of events would be an *odourless* digestion, and it may be one of the future aims of medical science to provide us with food completely freed from bacteria, and a digestive tract purged from the countless parasites that at present infest it. Meanwhile, Nature, taking the matter into her own hands, has, in the free acids of the normal digestive tract, provided us with a certain protection against most saprophytic and many pathogenic micro-organisms.



Ueber eine neue Eiterung erregende Microbienart: *Micromyces Hofmanni*.

VON

Prof. Dr. MAX GRÜBER, Wien.



Gelegentlich von Untersuchungen über Vaecine wurde von Dr. *Th. von Genser* im hygienischen Institute der Universität Wien eine eigenthümliche neue Microbienart als zufällige Verunreinigung gefunden, welche ihrer morphologischen Aehnlichkeit mit *Actinomyces* halber vom, seither leider einer, bei seinen wissenschaftlichen Studien erworbenen Infection erlegenen Dr. *G. von Hofmann-Wellenhof* in Gemeinschaft mit Dr. *von Genser* eingehender Untersuchung unterworfen wurde. Beim Tode *Hofmanns* war seine Untersuchung schon nahezu abgeschlossen und ich erlaube mir daher den Vorschlag, die neue Art zum Andenken an den trefflichen, unglücklichen Gelehrten mit seinem Namen zu belegen.

Die neue Art, welche wie *Actinomyces*, in manchen ihrer Formen, in ihren Dimensionen, im Aussehen ihrer Culturen, Aehnlichkeit mit den Baeterien zeigt, unterscheidet sich von diesen, wie *Actinomyces* dadurch, dass ihre Hyphen ächte Verzweigungen zu bilden im Stande sind. Sie muss daher den Hyphomyceten zugezählt werden.

In ganz jungen Culturen haben die Individuen die Gestalt von Stäbchen von weniger als 1μ . Diameter und sehr wechselnder Länge. Diese Stäbchen sind jedoch nie gerade und cylindrisch, sondern immer in mannigfaltigster Weise geknickt und knorrig verdickt. Das Aussehen der Präparate erinnert in diesem Stadium an dasjenige von Diphtherie-Culturen. Von den verdickten Stellen aus erfolgt dann Knospung, oft an vielen Stellen des Stäbchens gleichzeitig. Die Seitenzweige senden nun abermals Knospen aus und so geht dies fort, so dass bei völliger Ruhe und Ungestörtheit sich ein wirkliches, wurzelartiges Mycel bilden kann. In der Regel zerfällt aber das Mycel bald in kürzere Bruchstücke, die gewöhnlich nur Aeste zweier Ordnungen umfassen. Diese Bruchstücke, die oft, wenn die Aeste zahlreich sind und sich in die Länge gestreckt haben, das Aussehen von Sternchen oder Hirschgeweihen haben, gewähren ein überaus zierliches Bild. Die grosse Neigung zur Fragmentirung ist ein überaus charakteristisches Merkmal unserer Art.

Im jungen, vollkräftigen Zustande färben sich die Hyphen mit Anilinfarben sehr leicht, intensiv und gleichmässig, insbesondere auch nach der Gram'schen Methode. In älteren Culturen wird die Färbung ungleichmässiger; durch reichliche Querseidewandbildung gewinnen die Hyphen das Aussehen von Stäbchen- und Kugel-Ketten.

Alle Zellen sind mit dicken Membranen umgeben, welche besonders auf zuckerhaltigem Nährboden mächtig werden und durch Verklebung zur Zoogloecabildung Anlass geben können.

Höchst eigenthümlich und eine weitere Aehnlichkeit mit Actinomyces ist es, dass die Enden der Zweigchen nach Beendigung des Spitzenwachstums knopfartig, keulen-, flaschenförmig, auf's 5- bis 6-fache von der Dicke der Hyphe anschwellen. Im Jugendzustande färben sich auch diese Endkeulen sehr gleichmässig und intensiv mit Anilinfarben. Später treten in ihnen Querscheidewände auf und sie werden brüchig.

Wenn die Endkeulenbildung reichlich zu Stande kommt, sieht ein solches Mycelklümpehen einer kleinen Actinomycesdrüse, wie wir sie im Thiere finden, überraschend ähnlich.

Wie bei Actinomyces kann es in älteren Culturen zur *Verhalkung* der Endkolben kommen. In solchen alten Culturen zerfallen die Hyphen in einen kurzstäbchen-förmigen, zuletzt coecenartigen Detritus.

Fruetification konnte nicht beobachtet werden. Die Endkeulenbildung hat mit einer solchen nichts zu thun.

Die neue Art wächst nur bei Brutwärme. Sie ist auch sonst in ihren Ernährungsbedingungen etwas wählerisch und erliegt oft geringen schädlichen Einwirkungen. Die Culturen bleiben in der Regel nicht länger als 1 bis 2 Monate lebensfähig. Doch verträgt die Vegetation, besonders wenn sie von zuckerhaltigem Nährboden her stammt, das Austrocknen. Damit imprägnirte getrocknete Seidenfäden enthielten manehmal noch nach 10 Monaten entwicklungsfähige Keime. Durch Erwärmen auf 100° stirbt der Pilz, in feuchtem Zustande wenigstens rasch ab. Er wächst nicht auf gewöhnlicher Nährgelatine, ebenso nicht auf Kartoffeln, schlecht auf erstarrtem Blutserum, dagegen gut in Bouillon mit und ohne Peptonzusatz, in Bierhefenabkochung, auf Nähragar. Zusatz von 0.5–3 % Zucker zum Nährboden befördert sein Gedeihen. Schwach alkalische Reaction des Nährbodens ist die geeignetste. Sauerstoff begünstigt das Wachsthum wesentlich, doch ist faecultative Anaërobiose möglich. In den gewöhnlichen flüssigen Nährmedien bildet die Vegetation einen pulverigen, weissen Bodensatz. Auf festem Nährboden, z. B. auf Zuckeragarplatten, wächst der Pilz in der Form einer zähen, grauweisen, später bräunlichen, vielfach gefalteten und gerunzelten Membran. In der Tiefe der Platte wächst er in Gestalt von runden oder unregelmässig höckerigen Faserknäueln. Von diesem typischen Anssehen der Colonien kommen mannigfaltige Abweichungen vor. Niemals bilden sich Lufthyphen.

Auf zuckerhaltigen Nährböden bildet der Hyphomyces Säure und zwar, wie durch besondere Gährungsversuche festgestellt wurde, *Essigsäure*. Die Intensität der Säurebildung ist auch dann recht gering, wenn für Neutralisation der Säure durch Calciumcarbonat gesorgt wird.

Uebertragungen der Culturen auf Mäuse, Tauben und einen Hund durch subeutane Injection hatten keinen Erfolg.

Ebenso erzielte Injection in's Peritoneum von Meerschweinchen keine Gesundheitsstörung. Dagegen bekam von zwei am Bauehe inficirten Meerschweinchen eines an der Impfstelle ein eitriges Infiltrat.

Am Empfänglichsten zeigten sich Kaninehen gegen subeutane Infection. Injection von $\frac{1}{2}$ cem. (und darüber) Bouillon-cultur ruft fibrinös-eitrige Entzündung des Bindegewebes mit schliesslicher Bildung abgekapselter Abscesse hervor. Die Entzündung zeigt keine Neigung zur Progression, sondern steht in ihrer Ausdehnung immer im Verhältnisse zur injicirten Menge. Niemals wurde Allgemeininfection oder die Bildung von Metastasen beobachtet. Sieh selbst überlassen, führt der Proceß stets zur Heilung. Bei Injection sehr grosser Massen kommt es zu Nekrose der Haut und Geschwürsbildung. Auch solche Geschwüre heilen spontan. Der injicirte Hyphomyeet vermag dementsprechend nur kurze Zeit und in bescheidenem Ausmaasse parasitisch zu vegetiren. Nur in den ersten Tagen nach der Injection ist er in den Exsudatmassen aufzufinden. In den peripheren Theilen des Exsudates, welche vorwaltend fibrinös und zellärmer sind, bildet er häufig Drüsen, welche in ihrem Aussehen völlig kleinen Actinomycesdrüsen entsprechen. Der Untergang des Hyphomyeeten erfolgt in der Regel extracellulär. Die Phagoeytose, die übrigens stellenweise sehr schön zu sehen ist, spielt dabei eine secundäre Rolle.

Injection der Culturen in's Peritoneum und direct in die Blutbahn (in die Ohrvene) von Kaninchen ruft keine Krankheitsercheinungen hervor. Eine subperiostale Infection am Oberkiefer hatte nur eine geringfügige, bald ausheilende Eiterung zur Folge.

On Streptococcus Pyogenes.*

BY

Professor E. M. CROOKSHANK, M.B.

Professor Crookshank pointed out that this micro-organism is of equal interest to the physician, the surgeon, and the bacteriologist. It is found in abscesses, and, though disputed by Klein, it is now definitely established by the researches of Fränkel and Freudenberg, and more recently by those of Raskin, Prudden, Bayard Holmes, and the author, that the same organism is frequently found in scarlet fever and diphtheria, and in other diseases associated with septic complications. The author has frequently isolated this streptococcus from chronic abscesses, from suppuration after surgical operations, from pyæmia, from pyæmia after scarlet fever, and from purulent peritonitis. Some of these cultures had been kept up for very long periods, extending over some years, so that an opportunity occurred for a complete investigation into

* Abstract of remarks accompanying lantern demonstration.

the life history of this micro-organism. Variations in the appearances of cultures have been observed from time to time, and to still further investigate this, the author has more recently started a fresh series of cultivations from a case under the care of Sir Joseph Lister. A great number of cultures were prepared on gelatine and agar, made according to the usual receipt but at different dates, and, therefore, varying slightly in composition and quality. Sub-cultures on gelatine were also started in nutrient gelatine of precisely the same composition, but from primary cultures of the same micro-organism in different media—agar-agar, milk, and broth. Under these circumstances the descriptions of the streptococcus hitherto published proved inadequate. The different cultures and sub-cultures presented striking variations in their microscopical and macroscopical appearances. Some sub-cultures on gelatine, for example, exhibited the finely dotted appearance, others showed every variety in the size and degree of opacity of the colonies. Cultures in broth also varied in appearance, owing to slight variation in the composition of the medium, to slight differences of temperature, and other conditions difficult to determine. The addition of glycerine to broth materially altered the appearance of the culture. Professor Crookshank insisted upon the necessity of recognising these minute differences under different conditions of the cultivating media. He was led to study equally exhaustively the streptococci of acute suppuration in bovines. Primary cultures of *Streptococcus pyogenes* from man and primary cultures from a case of purulent peritonitis in a Jersey cow were carried through sub-cultures under exactly similar conditions. Cultivations of the *Streptococcus pyogenes bovis* exhibited variations in microscopical and cultural characters which were even more marked than in the case of the *Streptococcus pyogenes hominis*. By selecting certain cultures from both series there was a striking similarity if not identity between them but, when grown under exactly identical conditions, there was more difference in cultural characters between the *Streptococcus pyogenes bovis* and the *Streptococcus pyogenes hominis* than between the *Streptococcus pyogenes hominis* and the *Streptococcus erysipelatosus*. Professor Crookshank concluded that they were distinct varieties.



On the Question of the Identity of *Streptococcus Pyogenes* and *Streptococcus Erysipelatosus*.*

BY

Professor E. M. CROOKSHANK, M.B.



In 1882 Fehleisen isolated a streptococcus in erysipelas, described the appearances on cultivation, and maintained that it could be distin-

* Abstract of remarks accompanying lantern demonstration.

guished from the streptococcus of suppuration. Rosenbach agreed that the two micro-organisms could be distinguished by parallel experiments, and named the one *Streptococcus pyogenes* and the other *Streptococcus erysipelatosus* (Fehleisen). Rosenbach asserted that the colonies of the latter were more opaque and whiter than those of streptococcus pyogenes and the growth more marked in the depth of nutrient gelatine, while microscopically the chains were better marked and larger, and the individual cocci larger than in streptococcus pyogenes. Others who investigated this subject could not distinguish them with certainty, either by their morphological or cultural characters or effects on inoculation. Passet found that inoculation of streptococcus pyogenes induced a condition very similar to the result of inoculating streptococcus erysipelatosus. Haffa and Hajek described minute differences, but Biondi and Eiselsberg failed to confirm this. Baumgarten failed to prove any essential difference. Mitchell Prudden found that streptococcus pyogenes injected into the subcutaneous tissue of the ear of a rabbit, produced in one no effect; in four, slight transient redness; in five, local redness followed by abscess; in 12, well marked erysipelatosus redness, followed by complete resolution in seven, abscess in three and death in two. Passet, Biondi Eiselsberg, Baumgarten, and Mitchell Prudden concluded that, in their morphological, biological, and pathogenic characters, so far as animals are concerned, the two organisms are practically identical.

The author then gave an exhaustive account of the morphology and cultural characters of the streptococcus erysipelatosus, which he had isolated from a case under the care of Sir Joseph Lister. Cultivations and photographs were demonstrated. The result was, he thought, to clear up the conflicting statements which had been made by different observers. By carrying out absolutely parallel experiments, the streptococcus pyogenes and streptococcus erysipelatosus were unquestionably distinguishable, as Fehleisen and Rosenbach had asserted. In both cases, however, inoculation of a trace of a culture from a solid medium produced only transient redness. Injection hypodermically of a broth-culture in both cases produced a spreading erysipelatosus redness, followed by suppuration. To sum up, it was found that primary cultures of the two micro-organisms, cultivated under precisely the same conditions, differed in the size and character of their chains, in the size of the individual elements, in the greater opacity of the colonies of streptococcus erysipelatosus, in a greater tendency to confluence and in a more rapid growth. The author found that the difference was most marked in broth-cultures. Abundant flocculi were formed by streptococcus pyogenes; a powdery deposit with special tendency to form a granular adhesive film at the bottom of the culture flask, in the case of the streptococcus of erysipelas. Lastly, as pointed out elsewhere, they differed in their power of resisting germicides.



An Exposition of the Reasons for considering Cancer to be an Infective Disease.

BY

SAMUEL G. SHATTOCK, F.R.C.S., Lecturer on Surgical Pathology and Curator of the Museum, St. Thomas's Hospital, London, and
CHARLES A. BALLANCE, M.S., F.R.C.S., Lecturer on Practieal Surgery, St. Thomas's Hospital, Surgeon to the National Hospital, Queen Square, Assistant Surgeon to the Hospital for Siek Children, Great Ormond Street, London.



For several years we have been engaged in the attempt to cultivate a specific micro-organism from malignant new formations and to infect the lower animals from malignant tumours.

Up to the present time our results in this direction have been negative. The media used comprised nutrient gelatine, nutrient agar, horse and sheep blood-serum, human placental serum, and hydrocele fluid.* Human blood-serum apparently offers the most likely chance of success. We found it best to have the blood collected in sterile jars directly from the divided umbilical cord, whilst the placenta was as yet unexpelled. The blood so collected was poured into long sterilised test tubes, which were re-plugged with sterilised wool, and allowed to stand in cold water. The following day the serum was drawn off with a pipette, and transferred to other sterilised tubes plugged with wool. These were then placed for six successive days in a serum steriliser, and some of them were afterwards solidified.

We have at the present date, portions of two seirrhous carcinomata of the breast and of one sarcoma which were placed within tubes three years ago. The pieces, like the media, remain even now absolutely unchanged in appearance. In cases where any growth occurred, this was due to accidental contamination.

At the present time no specific micro-organism has been cultivated from malignant tumours.

The alleged discovery of a specific bacillus by Scheuerlen (Medical Society of Berlin, 1887) was, soon after its publication, shown to be fallacious. Kubasoff's assertions (proceedings of the third general meeting of Russian medical men at St. Petersburg, 1889, No. 2, p. 41) to the same effect have not been confirmed.

More lately the announcement by Russell ("British Medical Journal," December 1890) of the discovery of a specific fungus in cancer has attracted attention. We, in common with others, have satisfied ourselves that the appearances described by that author are met with in many other conditions, nor do we believe that the bodies in question are micro-organisms.

* Path. Soc. Trans., London, 1887.

Senger has, since our publication in the Path. Soc. Trans. similarly recorded a series of negative results in the same direction. (Med. Soc. of Berlin, Feb. 1888.)

Although failure has attended all such experiments, we are still firmly of the opinion, from consideration of their pathology, that malignant tumours are due to the growth of a micro-organism, vegetable or animal, and we have little doubt that the culture of such an organism will yet be effected.

We next undertook to see whether it were possible to infect the lower animals experimentally with carcinoma or sarcoma; our hope being that if an organism could be cultivated from malignant tumours, or animals infected therefrom, the attempt might be made to treat cancer successfully on the established principle of employing an attenuated or mitigated virus. For this purpose we adopted the practice of transplanting portions of living tumours, mostly scirrhus carcinomata of the human breast—sometimes the entire tumour—into the abdomen, subcutaneous tissue, or muscles of animals.*

Our results in inducing infection have been negative, but they have a certain value as furthering a knowledge of the pathology of cancer, though only by way of exclusion. They show that the lower animals cannot be infected with carcinoma or sarcoma from the human subject, or, at least, that the animals we have used cannot be so infected, namely, monkeys, dogs, rats, cats, and sheep.

In these experiments the tumour, immediately after its severance from the body of the patient, was placed in a small incubator and conveyed to the laboratory. There it was allowed to stand in the incubator, whilst the animal, into whose body it was to be grafted, was etherised. The operation was conducted with strict antiseptic precautions. Whilst the peritoneum was being opened, one of us removed all superfluous tissue and fat from the tumour, the whole of which was then transferred to the abdominal cavity, or several portions were cut from it and pushed in different directions with the finger into the abdomen. In some instances a piece was sutured by fine catgut into the centre of a muscle, the muscular tissue being brought together with catgut over it, and, in a third series of experiments, portions of the tumour, with more or less of the surrounding tissues, were placed in the subcutaneous or sub-peritoneal tissue.

The tumour-tissue was transferred to the body of the animal in from half to one and a half hours after removal. In the interval it was kept at the body temperature, so that its elements probably maintained their vitality unimpaired. It is stated, on Cohnheim's authority, that skin and bone will retain their vitality over 12 hours after the complete cessation of circulation through them; renal and intestinal epithelium die within two hours.

In those animals that have died, or have been killed, the pieces of tumour, if small, have been nearly or quite absorbed, or, if large, an inflammatory capsule has been produced around them, the tumour tissue

* "Proceedings Royal Society," London, vol. xlviii., 1890.

itself being in a similar condition to that of an infarct, namely, coagulation necrosis. In two instances an entire scirrhus carcinoma of the breast was inserted into the abdominal cavity, and disappeared without leaving a trace, the abdominal wound having healed without any discharge of the graft having occurred. In the first of these two, the tumour was $1\frac{1}{2}$ by $\frac{3}{4}$ inch. The animal was quite well 700 days after the experiment, when it was killed. *Post-mortem*, no peritoneal adhesions, no sign of the graft; all the viscera healthy.

In all the experiments, with the exception of two, the grafts were of tumours from the human subject. In two cases they were from malignant tumours of other dogs, the animals used in these two cases being also dogs. Both were negative in result.

Of tumours from the human subject we have transplanted portions from different cases into eight monkeys, seven dogs, three rabbits, three white rats, three sheep, and one cat. Besides the above transplantation experiments, we fed two white rats, male and female, with portions of 14 fresh scirrhus carcinomata of the breast. These feeding experiments extended over a period of seven months, during which time the rats remained well, and several litters of young were born. These experiments were undertaken with the view of seeing if infection of the stomach or intestine could be induced in a way similar to that which is set up in some instances by the ingestion of tuberculous material. On killing the rats, the pylorus and other parts of the alimentary track were found to be quite normal.

By injecting cancer juice triturated and mixed with distilled water into the jugular vein of dogs, certain results have followed in the hands of Langenbeck, Follin, and Lebert. Nodules have been found in some of the internal organs, but the results are of no value owing to the lack of sufficient histological investigations as to their nature. For it is well known that inert solid particles, if lodging in internal organs, excite a local inflammation and production of fibroid tissue, which may attain some size; this is a well-known occurrence in the lung in masons, for instance.

Senger* and Senn† have, like ourselves, failed in inducing tumour formation in the lower animals by the practice of grafting portions of tumours from the human subject.

At present there is no instance of the experimental transmission of malignant disease from man to the lower animals, or rather, none that has been sufficiently authenticated to satisfy the requirements of modern criticism. But a few cases are forthcoming in which infection has been experimentally induced between animals of the same species.

Dr. Hanau, of Zurich, has successfully transferred squamous-celled carcinoma from a rat with such a growth on the vulva to a series of

* "Studien zur Actiologie des Carcinoms" ("Berlin Klin. Wochenschrift," 1888).

† "Surgical Relations of Micro-organisms" ("Transactions of the American Surgical Association," vol. 6, 1888).

other rats; and Wehr* has transferred vaginal carcinoma from one dog into the subcutaneous tissue of the abdomen of another.

Nerinsky also was successful in inoculating one dog from another.

Dr. Eiselberg has successfully grafted fibrosarcoma from one rat to another.† Hahn has shown that in the human subject it is possible to transplant a carcinomatous nodule from one spot to another in the same person. This practically amounts to the artificial production of metastasis, and can hardly be said to do more than experimentally confirm what was already known in this regard.

Dr. Hanau, when in London last year, was good enough to show us the microscopic sections of the carcinomatous growths induced by transplantation; these were of the typical squamous-celled kind.

This experiment cannot but be regarded as of much importance. For it would show, amongst other things, that carcinoma may be in certain cases at first a purely local disease. This, we submitted, it sometimes was.‡ We considered that, like tuberculosis, cancer might be sometimes a purely local disease in the strict sense of the term; that at others it might have, like tuberculosis, a constitutional origin, that is, it might happen that the individual presented a certain pre-disposition or fitness of soil, or was possibly infected with the virus without presenting any local lesion. If a series of rats admit of infection from such a carcinoma as that mentioned, the conclusion is obvious that carcinoma may be in its origin, under circumstances, a strictly local disease. The complete cure of squamous-celled carcinoma in different situations by excision in the human subject supports this opinion.

It appears, therefore, that the transmissibility of carcinoma or sarcoma by experiment obtains only between animals of the same species. In this, carcinoma and sarcoma would seem to differ from such infective formations as tubercle and others, where the introduction of infected tissue into suitable animals is followed by the local or general infection of the animal into which the graft has been made. In the latter case it is unnecessary that the graft should retain its vitality; its purpose is to serve only as a means of conveying or introducing the infecting virus. In the case of carcinoma or sarcoma, however, it would appear necessary that the tissue introduced should itself live, and that this is as requisite as is the introduction of the hypothetical contagium. The grafting of infective tumours from the human subject to the lower animals would on this account fail; the graft would as surely die as do the corpuscles of lamb's blood when transfused into the human subject. Nevertheless, as we have pointed out,‡ the mere transference of normal epithelium would not account for the metastatic growth of a carcinoma. The epithelium so transferred in the metastasis of tumours, and from which the

* "Transactions of the Eighteenth Congress of German Surgeons," Berlin, 1889, "Weitere Mittheilungen über die positiven Ergebnisse der Carcinomüberimpfungen von Hund auf Hund."

† Wiener klin. Wochenschrift, 1890.

‡ Path. Soc. Trans., 1887.

secondary growths arise, must, as a matter of deduction, be essentially abnormal; either intrinsically, or by reason of its containing within or having associated with it some microbe or microzoon, the presence of which constitutes the true cause of its morbid properties.

The observations of Darier and of Wickham on Paget's disease of the nipple cannot, as yet, be said to establish any direct causal relation between this condition and carcinoma of the breast, even if it be allowed that the cutaneous disease is a form of psorospermiosis. In this, as in other cases, the four requirements laid down by Koch must be fulfilled; if the microzoon in question cannot be cultivated outside the body, the infection at least of one of the lower animals susceptible (for example, the rabbit), or even of the human subject, must be accomplished.

We have on rabbits, monkeys, dogs, and rats endeavoured to induce disease by subcutaneous and intravenous injection, as well as by vaccination of psorospermial material from the livers of recently killed rabbits. Although we have allowed animals to live for many months after these experiments, we have not succeeded in producing either local or general psorospermiosis, much less any cancerous formation.

The reasons for regarding Cancer as a parasitic Disease.

Carcinoma we should regard, firstly, as having sometimes a purely local origin, in the same way that the tubercular infection-process may arise by direct inoculation and remain a local, though a spreading disease. So we should look upon some examples of squamous-celled carcinoma of the lip in smokers, the early and free removal of which may be followed by complete cure of the disease. In other words, a patient suffering from a carcinoma which has arisen as a local disease, and has not passed beyond the stage of local infection, may not only be relieved by the knife from the actual disease but saved from an almost certain secondary infection. The case, in fact, is exactly comparable to one of local tuberculosis arising from direct inoculation, or to external anthrax whilst it is yet a local process, and might be termed one of local carcinomatosis. Against this view, thus typically illustrated, the main argument adduced is that all those exposed to the local irritation arising from smoking should become therefore the subjects of carcinoma. But the efficient cause lies beyond the mechanical irritation, which is but the partial cause of the disease; and the question resolves itself into this: why are some persons infected under such circumstances whilst others escape?

Reflection will suggest possible answers, the irregular distribution of the virus, the dependence of its efficacy upon the various elements of environment, personal predisposition, &c.

Tetanus is more common in certain parts of the globe than others. The same is true of tubercle,* to say nothing of those specific diseases which, like malaria or cholera, are endemic. And cancer has, in the same sense, a geographical distribution.

* Buchanan, quoted by C. Theodore Williams in "Quain's Dictionary of Medicine," p. 1167, "Damp Districts, Clay Soil, Moist Atmosphere."

The most complete investigation into the distribution of cancer, as it affects England and Wales, is that of Haviland (*"Geography of Heart Disease, Cancer, and Phthisis,"* 1875). His conclusions are that geologically the hardest and most elevated rocks, or the most absorbent like the oolite and chalk, are the sites where the least mortality from cancer is found. Secondly, that along the river courses which flood their banks seasonally, such as the Thames, the Severn, the Mid Devon and Yorkshire rivers, are to be found the districts in which the highest mortality takes place. Thirdly, that wherever, from the nature of the rocks forming the watershed, the floods are much discoloured by alluvium, and where, from the flatness of the country, the floods are retained and not easily drained off, there we find the greatest mortality from cancer among females. The mortality from cancer is most high in Devon; its river system carries abundant alluvium when it swells, and the adjacent districts are often covered with water for a considerable time during the rainy season. The Thames counties, characterised by their tertiary soil and frequently flooded river, form, as it were, a typical cancer field.

In connexion with the high mortality of Devonshire, we may cite a remarkable instance, the details of which were communicated to us by Dr. R. Ackerley of Ashburton. In a large house in the latter town, situated in low ground, the cellars of which are below the level of a small stream which runs through the town about 20 yards from the house, four cases of cancer have occurred in the last 13 years. 1. A lady who had occupied the house for many years died from cancer of the breast, and it was said also of the womb. 2. The next occupant, after residing at least seven years in the house, died of cancer of the breast; the husband of the latter died two years ago of carcinoma of the larynx. 4. The second wife of the last mentioned, whom he married five years ago, has lately had her breast removed for scirrhus carcinoma.

Four other deaths from cancer have been certified in the last four years in persons who had resided for many years within 100 yards of the same house. In the Newton Abbott district of Devonshire, in which Ashburton lies, the proportion of deaths from cancer to deaths from all causes is as 1 to 17; it is 1 to 21 for the county of Devonshire, 1 to 27 for the whole of England (Registrar-Général's Return, 1889).

Mr. Lawrance of Hammersmith has also related to us a striking instance of a similar kind, which he had observed in this low-lying riverside district: "A lady in one house having a long illness died of cancer of the liver, and a patient in an adjoining house always said she smelt a very peculiar and disagreeable smell which seemed to come down the chimney from the room of the invalid, and she always thought this made her ill. She became jaundiced and died eventually of medullary cancer of the liver. I did not think much of this at the time, but your speaking to me of the probable communicability by infection in cases of cancer made me think it might be so in this instance. In the next house on the other side a man aged about 35 died of schirrus of the stomach. There was no communication by a

“chimney with this house, but it is singular that three cases in adjoining houses should have been affected with cancer in some form. There was no hereditary history in the last two cases.”

The conclusions of Haviland are borne out by the Collective Investigation Record (“British Medical Journal,” February 1887), which showed the prevalence of cancer in low-lying districts, especially towns near rivers and on clay soil.

Erichsen states (“Surgery,” 8th edition) that cancer is said to be unknown in the frigid zone; it rarely occurs amongst the inhabitants of the torrid zone, though in the more populous parts it is not unknown.

Hirsch* and Milton† note the rarity of cancer in Egypt, and Simon its remarkable prevalence in New Zealand. Besides Egypt, Abyssinia, Tunisia, and Algeria are almost immune from the disease, and Hirsch mentions Norway and the high table-land in Mexico as opposing Haviland’s view that the high levels are comparatively free from the disease.

Lastly, there is fair proof of the local inoculability of squamous-celled carcinoma in the well-known cases of infection of one labium arising from contact with a carcinomatous ulcer on the other. An excellent example of the same class is given by Mr. Harrison Cripps in his paper on carcinoma of the rectum, in which he mentions a case of carcinomatous infection of the skin of the arm from contact with an ulcerating scirrhus of the mamma.‡

We have quite recently seen a most suggestive specimen in this regard. It was taken from a patient under the care of Dr. Ord. The specimen exhibits a carcinomatous stricture towards the upper part of the œsophagus. From the main growth there are traceable downwards in the mucous membrane long extensions of the disease; these growths are limited to the summits of the rugæ, and in the lowest portion of the œsophagus, which is otherwise unaffected, there occurs a small isolated nodule in the most superficial part of the mucous membrane of similar new growth, and there is a still larger focus in the mucous membrane of the stomach, close by the cardiac orifice.

Here the most reasonable view of this dissemination is that the infecting material in its transport along the œsophagus from the ulcerating tumour had directly inoculated the most prominent portions of the rugæ. This patient had been for several weeks treated by catheterisation, and was for some time fed by this means; gastrostomy was subsequently performed. In this case it is difficult not to believe that the course of events has been the same in kind as that which leads to the secondary infection of the intestine in pulmonary or laryngeal tuberculosis or of the lower part of the urinary tract in tuberculosis of the kidney.

* “Handbook of Geographical and Historical Pathology.” New Sydenham Society Tr., 1886.

† Personal information.

‡ “Pathological Society’s Transactions,” Vol. XXXII.

In all these cases, the secondary infection appears to result from the direct inoculation of the virus conveyed from the primary source of disease; and in the instance first noticed, the treatment of catheterisation so long adopted seems to us to explain the remarkable distribution of the secondary infection.

As supporting the view that many cases of carcinoma arise by direct infection from without, may be quoted the statistics drawn up by Edmund Andrews, of Chicago ("Journal of American Medical Association," November 23rd, 1889). The author collected 7,881 cases of primary carcinoma of different parts; these showed that the parts most exposed are most prone to disease.

The disease of the lymphatic glands in anatomical relation with a carcinoma, admits of no other explanation than that it is due to infection conveyed from the primary focus. There is no conceivable alternative.

In this respect, again, tubercle has a parallel history in the secondary gland disease which commonly arises from a local tubercular lesion, and which invariably follows the experimental production of tuberculosis by subcutaneous inoculation of the bacillus in healthy animals.

The parallel extends even further. It is well known to clinical observers that after the first appearance of tuberculosis in the lymphatic glands, *e.g.*, in the neck of children, the disease may remain quiescent for many years, and on the patients reaching adult age again exhibit all its former activity. In precisely the same way we know of cases in which, after the removal of a mammary carcinoma, disease has appeared in the lymphatic glands of the axilla as long as four years after the operation. Still more markedly in a case of excision of the tongue for squamous-celled carcinoma, we have known the glandular disease appear at an interval of as much as seven years after the operation. In all such cases it must be held that the glandular infection arose during the growth of the primary tumour, for this is the only means of accounting for the growth of epithelial neoplasms in the tissue of lymphatic glands; and this being so, the conclusion is inevitable that the infective material conveyed to the glands has remained latent or quiescent during the periods mentioned.

The instances of general infection occurring through the lymph or blood-stream from a local carcinomatous or sarcomatous lesion have so many parallels in the history of other specific diseases that the analogies need not be further referred to. The succession of general tubercular infection as witnessed in animals after primary inoculation is strictly like the general dissemination of carcinoma that follows upon the secondary infection of the lymphatic glands. The special anatomical characters of the secondary growths in carcinoma are ample proofs of their source from the primary tumour. In the case of sarcoma, perhaps, the best proof of the same fact is furnished by the melanotic variety, where the pigmentation of the secondary tumours is sufficient evidence of their origin from the primary growth.

The foregoing, doubtless, include only the simpler of the pathological processes involved in the history of malignant new growths; and far

more abstruse problems arise in connexion with the more numerous cases in which the disease, though first manifested locally, has a "constitutional origin"; amongst parallel diseases, tubercle, again, offers itself for consideration.

When tubercular arthritis is set up by a local injury the problem to be solved is how the local disease derives its specific characters. What is true of tubercle is almost certainly true of cancer. The apparent cause of the latter may be some slight injury, but such an injury, in this case as in that of tuberculosis, can be the partial cause only, and cannot be the whole cause.

Clinical observers are agreed that tubercular disease is predisposed to in certain persons; that the predisposition is hereditary; that the scrofulous diathesis, although it may not always be recognisable by the ordinary gross tests, is nevertheless a fact. What this diathesis really is cannot as yet be stated. It may, however, be provisionally thought of either as tuberculosis without a local lesion, or as a soil eminently favourable for the growth and development of the virus of tubercle.

The influence of the personal element or "predisposition" in relation to infective diseases is recognised, indeed, as a fact of wide importance in medicine. As a corollary of this may be noted the peculiar indisposition shown by certain persons to take the same diseases.*

Perhaps the tubercular diathesis bears a just comparison with hereditary syphilis. In hereditary syphilis the disease will remain latent after its earliest manifestations until puberty, when it will again disclose itself. In this long period of latency it surely must be held that the virus, or, to speak more definitely, the bacillus, remains potent for evil, though it does not make its presence shown.† In acquired syphilis in the adult the same is true, as seen in the outbreaks which are liable to occur for years after the date of the primary disease,—the gumma is not less characteristic of syphilis than is caseous tubercle of tuberculosis.

And the many recorded cases in which cancerous tumours have rapidly grown after injury bear comparison with the specific local tubercular lesions arising under similar circumstances in "scrofulous subjects."

Again, there appear to be cases of a simultaneous outbreak of malignant tumours in various parts of the body ("general sarcomatosis"); and such cases may be compared with those of general tuberculosis arising independently of a known primary lesion. Here, however, it is probable that the real sequence of events has escaped detection, that the primary source of infection has been overlooked, and that further know-

* See Hirsch, "Historical and Geographical Pathology," New Syd. Soc., vol. iii., p. 110, where instances of indisposition to diphtheria are given.

† Compare the cases of long-delayed formation in the history of certain galls referred to by Sir James Paget as illustrating the phenomenon named by German writers "Eirnie" (address on "Elemental Pathology," "Brit. Med. Journal," 1880).

Malaria and relapsing fever well illustrate the possibility of certain pathogenic organisms remaining for a period dormant without producing results by which their presence may be shown.

ledge will diminish the number or abolish the whole of the cases at present included under the term "simultaneous outbreak."

In such parasitic diseases as tubercnlosis, actinomycosis, and syphilis, the new formations are, it may be said, chiefly or simply inflammatory; infective grannlomata result, but not infective epithelial tumours.

In the sarcomatous tumours, however, the anatomical forms are more or less closely like those that result from inflammatory processes; the most rapidly growing are of the round-cell kind, the more slowly growing fibrify; and those arising in connexion with the bones tend to ossify, as does the granulation-tissue produced in osteoplastic inflammation.

In carcinoma the primary and the secondary formations are essentially epithelial. But in carcinoma there are nevertheless all the anatomical signs of inflammation (especially at the circumference of the tumour) combined with the epithelial growth, and in this degree it is a "granuloma." Moreover, amongst infective inflammations, epithelial proliferation may play a prominent part; it is an important element, for instance, in certain forms of pulmonary and mammary tuberculosis.

Sir James Paget, in his well-known address on "Elemental Pathology,"* cites a few cases in which the same insect produces different kinds of galls according to the different sites of oviposition. And so in hereditary cancer, there may arise variations in the kind of morbid growth, the essential cause of the disease remaining the same.

That the transport of a normal cell is not sufficient to account for the indefinitely-growing secondary tumours is proved by Leopold's experiments, which show that portions of growing tissue, if transplanted, though they grow for a while, subsequently undergo atrophy; they do not grow into tumours, and a similar result has been obtained by Cohnheim and Maas (Virchow's "Archiv.," vol. 70), in the case of periosteum, &c., made to lodge in the lung.

The chief difficulty to be met in regard to the secondary growths in carcinoma is the resemblance which these sometimes present to normal structures.

In columnar-celled carcinoma of the rectum, the secondary growths in the liver may resemble the crypts of the intestine. In thyroid cancer the metastatic growths may resemble the thyroid gland. With respect to this we submit the following consideration:—

In the normal process of development it is the epithelial element which determines the general anatomy of any particular gland; the arrangement of the connective tissue and the vascular supply are adapted to the requirements of this the essential element. Hence it will follow that when epithelium from one of the diseased crypts of the intestine is transported to the liver, it would tend to produce by its inherited capacities a structure resembling that of which it primarily formed a part, the sustentacular tissue and vascular supply being furnished by the indifferent tissue around.

* Loc. cit.

In the periodical regeneration of the uterine mucous membrane after its partial destruction in menstruation, a normal process of gland-formation occurs from the relics remaining in the undestroyed portion of the membrane.

Altogether, the pathology of infective tumours is much less difficult of conception than is that of those which are benign. Those of the latter that are "continuous" might perhaps be best looked upon as "variations," which do not persist since they bring no advantage to their possessor. The local accumulations of fat, however, which are seen in certain races (*e.g.*, on the buttocks in the Hottentot) may be exceptions; these might be regarded as persistent variations of the nature of "continuous" tumours. But a carcinoma, characterised as it is by its essentially infective character and fatal tendency, cannot, we hold, be rightly classed amongst the same growths; it can indeed no more properly be called a "variation" than may the lesions due to tubercular infection or the pigmentation of the skin in Addison's disease.

We are not, however, prepared to admit at present that the theory of "variations" offers a completely satisfactory explanation of the occurrence of benign tumours like a diffuse lipoma, or an exostosis, which are not continuous with normal tissues, and which seem to have a life-history of their own, or one independent of the state of general nutrition of the subject in whom they grow.

Increase in the prevalence of Cancer.

From* the year 1851 to 1860 the mortality from cancer of males in England was 195 per million, in females 434 per million.

From 1871 to 1880 it was—

In males, 315 per 1,000,000.

In females, 622 per 1,000,000.

This is a rise of 62 per cent. in the male, and 43 per cent. in the female.

On the basis of statistics for 1887, 1888, 1889, of males over 35 years of age, 1 in 21, it may be calculated, will die of cancer; of females, 1 in 12.

In the year 1889, the total number of deaths in England ascribed to cancer was 18,654; this gives a proportion of 643 per million of living persons. There is clearly, therefore, a decided increase of this disease, which is unaccountable for merely on the hypothesis that this increase in numbers has resulted from increased accuracy in making the return.

The Registrar-General points out that it may be explained by considering that there is no hindrance to the marriage of persons with strong inherited tendencies to cancer, as there is in the case of tuberculosis, in which disease children so often die young; so that there must be a constantly growing proportion of the population which shares in the constitutional defect.

* Registrar-General's Report, 1890.

From the several foregoing considerations we submit that there are very cogent reasons for believing that cancer is a micro-parasitic disease. Its natural history, its communicability, and the facts relating to its distribution, all point in favour of this view. And, notwithstanding the fact that no positive demonstration of the living nature of the virus is yet forthcoming, we cannot ourselves doubt that such a demonstration will eventually be achieved; and as a working hypothesis, we venture to submit that no other admits of being intelligibly substituted for it.

Recherches sur la Nature parasitaire du Cancer.

PAR

MM. le Professeur SIMON DUPLAY et le Docteur MAURICE CAZIN,
Paris.

Indépendamment des bactéries diverses qui ont été signalées dans le cancer par Rappin, Scheurlen, Schill, Lampiasi, Francke, Nepveu, Domingos Freire, Koubassoff, etc., bactéries auxquelles on n'accorde généralement aujourd'hui qu'un rôle secondaire dans l'évolution des tumeurs malignes, on a décrit dans les cancers épithéliaux certains éléments particuliers que l'on a considérés comme étant des sporozoaires, appartenant soit au groupe des coccidies, pour les faits publiés notamment par MM. Malassez et Albarran,* Vincent,† et Thoma,‡ soit au groupe des microsporidies, pour les faits signalés par Von Nils Sjöbring.§

Tous les observateurs n'ont pas adopté cette manière d'interpréter la nature de ces éléments, et MM. Borrel,|| Schütz,¶ Cornil,** Fabre-Domergue,†† ont successivement décrit ces productions comme représentant simplement différentes sortes de modifications cellulaires.

Nous nous sommes attachés depuis deux ans à l'étude de ces formations d'apparence parasitaire, et nous avons dirigé dans ce sens

* Albarran.—Tumeurs épithéliales contenant des psorospermies. "Soc. de biol," 6 Avril 1889.

† Vincent.—Sur la présence d'éléments semblables aux psorospermies dans l'épithélioma pavimenteux. "Soc. de bio!," 1 Mars 1890.

‡ Thoma.—Ueber eigenartige Parasitäre Organismen bei den Epithelzellen der Carcinome. "Fortschritte der Med.," 1889, No. 11.

§ Von Nils Sjöbring.—Ein parasitärer protozoartiger Organismus in Carcinomen. "Fortschritte der Med.," 1890, No. 14.

|| Borrel.—Sur la signification des figures décrites comme coccidies dans les épithéliomas. "Arch. de médéc. expérim.," 1890, No. 6.

¶ Schütz.—Ueber die Protozoen, und Coccidienartigen Mikroorganismen in Krebszellen. "Münche med. Wochenschr.," 1890, No. 35.

** Cornil.—Modes de multiplication des noyaux et des cellules dans l'épithéliome. "Journal de l'Anat. et de la Physiol.," 1891, p. 97.

†† Fabre-Domergue.—De la signification des Coccidies que l'on rencontre dans les néoplasmes. "Congrès français de chirurgie. Paris, Avril 1891.

l'examen des tumeurs cancéreuses que nous avons pu recueillir soit à l'hôpital Beaujon, soit dans les services de clinique chirurgicale de Necker et de la Charité; nous avons ainsi étudié comparativement plus de soixante cancers épithéliaux, épithéliomes pavimenteux ou careinomes.

Nous n'avons pas à faire ici l'histoire des coccidies; nous rappellerons seulement que l'évolution de ces parasites comprend deux périodes distinctes:—1° une période d'accroissement ou de végétation, pendant laquelle les coccidies, revêtant simplement une forme amœboïde, se montrent constituées par une masse de protoplasma sans membrane d'enveloppe et renfermant ordinairement un noyau; 2° une période de reproduction correspondant à l'enkystement des masses amœboïdes, suivi de la formation, à l'intérieur de chaque kyste, de spores dont le nombre varie suivant le groupe que l'on considère, et qui donnent elles-mêmes naissance, par bourgeonnement, suivant les genres, à un ou plusieurs corps falciformes, pourvus d'un noyau et destinés à prendre ultérieurement la forme amœboïde.

Tels sont les traits principaux de l'évolution des coccidies, que nous nous sommes efforcés de retrouver dans les productions signalées dans les cancers épithéliaux comme étant des parasites se rapprochant de ce groupe.

Dans les tumeurs que nous avons examinées, nous avons pu très souvent observer toute une série de figures qui correspondent évidemment à la plupart des formes parasitaires décrites dans le cancer, et qui, en effet, peuvent faire songer à des parasites enkystés, et en particulier aux coccidies pendant les stades qui précèdent la période de reproduction. Mais, en aucun cas, malgré des examens multipliés, il ne nous a été possible de distinguer aucune formation qui pût être regardée comme correspondant à la période de reproduction des éléments considérés comme parasitaires, et il nous a paru que cela ne pouvait être que dans certaines formes irrégulières de divisions indirectes des cellules qu'il fallait chercher les figures qui avaient pu être interprétées dans le sens de stades de reproduction par les observateurs qui, comme Von Nils Sjöbring, ont décrit dans le cancer des kystes sporifères.

C'est dans l'épithélioma pavimenteux lobulé à globes épidermiques que l'on peut observer de la façon la plus nette, et en grande abondance, certains des corps qui ont été décrits comme des coccidies par MM. Malassez et Albarran. Nous avons examiné une trentaine d'épithéliomes de cette variété, provenant des lèvres, de la langue, de l'œsophage, de la peau du nez, de la main, etc., et, dans la plupart de ces tumeurs, les éléments qui ont attiré notre attention par leur ressemblance complète avec les coccidies décrites dans les épithéliomes nous ont paru n'être que le résultat d'une évolution cellulaire spéciale en rapport avec la formation des globes épidermiques, suivant l'opinion émise par Fabre-Domergue.

Ces éléments, bien qu'on puisse les rencontrer plus ou moins épars au milieu des cellules épithéliomateuses, occupent généralement le centre des globes épidermiques, et sont particulièrement faciles à étudier,

lorsque ceux-ci ne présentent pas une évolution trop avancée. Le plus souvent, on observe, au centre d'un globe épidermique en voie de formation, une cellule épithéliale notablement modifiée, généralement plus volumineuse que les cellules voisines, et présentant une forme arrondie ou ovale, avec une membrane d'enveloppe plus ou moins épaissie, qui offre souvent une striation rayonnée et qui est limitée vers l'extérieur par un contour net, très-réfringent; le contenu protoplasmique de la cellule a déjà subi des altérations très-appreciables, qui se traduisent notamment par une coloration jaunâtre sous l'influence du picrocarmin et par une rétraction plus ou moins accentuée, qui, dans un assez grand nombre de figures, aboutit à la formation d'une sorte de vacuole, au milieu de laquelle on observe alors le protoplasma et le noyau de la cellule, profondément altérés. Quelquefois, au lieu d'une seule masse protoplasmique, on trouve, à l'intérieur de la cellule, deux masses protoplasmiques, pourvues chacune d'une masse nucléaire mal délimitée, et l'on a dans ce cas l'apparence de deux parasites contenus dans un kyste, ou plutôt d'une simple division du contenu de la cellule, si l'on n'adopte pas l'hypothèse psorospermique. Ajoutons que les cellules épithéliales qui entourent la cellule centrale sont en quelque sorte moulées sur cette cellule, s'imbriquant les unes sur les autres, de façon à constituer le globe épidermique. Mais entre la cellule centrale et les cellules épithéliales voisines, il n'est pas rare d'observer, dans les globes en voie de formation, quelques leucocytes interposés, et il peut arriver qu'un de ces éléments se montre, de face ou de profil, si étroitement appliqué contre la cellule centrale qu'il paraît se confondre avec elle, et dans ce cas il faut quelquefois pratiquer un examen minutieux, en faisant varier la mise au point, pour ne pas croire à l'existence d'un noyau appartenant à la cellule centrale, et rejeté à sa périphérie, ce qui permettrait d'adopter à tort dans ce cas la conception d'un élément parasitaire vivant à l'intérieur de la cellule épithéliomateuse.

D'ailleurs nous ne croyons pas que les figures que nous venons de décrire aient pu seules donner naissance aux interprétations favorables à l'existence de sporozoaires dans les cancers épithéliaux. Dans les tumeurs, épithéliomateuses ou ecarcinomateuses, que nous avons étudiées, nous avons rencontré un grand nombre de figures de divisions indirectes des cellules cancéreuses, qui nous ont notamment offert les plus grandes ressemblances avec quelques-unes des figures représentées, dans les dessins de Von Nils Sjöbring, comme correspondant à différents stades de l'évolution des parasites décrits par cet auteur dans le carcinome. Nous n'insisterons pas sur les détails que nous avons pu relever dans la structure des cellules et des noyaux en division indirecte irrégulière, et qui peuvent expliquer certaines confusions faites avec des organismes parasitaires. M. le Professeur Cornil,* dans le mémoire intéressant qu'il a récemment consacré à cette étude, a décrit et figuré ces formes cellulaires, qu'on est exposé à prendre pour des

* *Loc. cit*

coccidies, avec un soin trop minutieux pour que nous ayons rien à y ajouter.

En résumé, dans l'ensemble des observations que nous avons pu faire sur un nombre relativement important de cancers épithéliaux, nous avons très souvent rencontré des figures qui peuvent donner l'impression de parasites unicellulaires pourvus d'un noyau, inclus dans les cellules du tissu néoplasique, mais, étant donnée l'absence complète de formes de reproduction absolument indiscutables, nous ne nous sommes trouvés en aucun cas autorisés à ranger ces productions parmi les coccidies, ou même à admettre seulement la nature parasitaire de ces productions, qui, dans l'état actuel de la question, ne nous paraît pas suffisamment établie. En présence de ces divergences d'interprétations basées simplement sur des examens microscopiques, la solution du problème ne peut être définitivement acquise, en faveur de l'hypothèse de la nature psorospermique du cancer, que par les résultats des cultures et des inoculations, qui jusqu'ici n'ont pas fourni de preuves absolument démonstratives.

Il nous reste à dire quelques mots d'une dernière hypothèse émise sur la nature parasitaire du cancer. En Décembre 1890, M. Russell* a publié la description d'organismes qui, d'après lui, sont des champignons parasites, caractéristiques du cancer ; à la même époque paraissait dans le Journal de l'Anatomie,† du professeur Pouchet, la description d'une forme de dégénérescence cellulaire hyaline que nous avons eu l'occasion d'étudier quelques mois auparavant. Or les *corps à fuchsine* de M. Russell, considérés par cet observateur comme des parasites appartenant spécialement au cancer, ne sont pas autre chose que les produits de dégénérescence cellulaire hyaline étudiés par nous ; en effet, nous avons répété la réaction par la fuchsine et le vert d'iode indiquée par M. Russell, et cette réaction a mis en évidence nos globes hyalins, tout aussi bien que la coloration par le krystalviolet que nous avons employée dans nos recherches. Les corps étudiés par M. Russell et ceux que nous avons décrits nous paraissent être identiquement les mêmes, mais l'interprétation que nous leur donnons diffère essentiellement de celle qui a été émise par cet auteur. M. Russell, en effet, dit n'avoir jamais rencontré ses *corps à fuchsine* que dans les épithéliomas, sauf quelques cas très rares ; il en conclut qu'il s'agit d'éléments caractéristiques du cancer, et il pense que ces éléments sont des parasites appartenant au groupe des champignons. Nous avons bien, en effet, constaté très souvent la présence de ces corps dans les épithéliomas, mais nous les avons également rencontrés très-communément dans des tissus pathologiques non cancéreux, notamment dans des tissus tuberculeux, dans une tumeur éléphantiasique de la vulve, dans des cas de lésions irritatives chroniques de la peau, dans le périoste alvéolo-dentaire, et M. Letulle, Professeur agrégé à la Faculté, a également retrouvé ces productions, d'après une note qu'il a bien voulu nous communiquer, dans un cas d'ulcère simple de l'estomac, dans une endocardite infectieuse

* Russell.—“ *The British Medical Journal*,” Décembre 1890.

† Maurice Cazin.—Contribution à l'étude des dégénérescences cellulaires “ *Journal de l'Anat. et de la Physiol.*,” Décembre 1890, p. 593.

ulcéreuse, dans plusieurs cas de phthisie pulmonaire chronique fibreuse et d'adénites chroniques tuberculeuses, dans une gingivite hypertrophiante, dans deux cas de fistules urinaires périnéales, et enfin dans un cas de néphrite subaigue d'origine urétérale.

Ces corps sont par conséquent bien loin d'être caractéristiques du cancer, et, d'autre part, il résulte de l'ensemble des caractères que présentent leur évolution et leurs réactions qu'ils doivent être simplement rattachés à un mode de dégénérescence hyaline, sur l'évolution de laquelle nous n'insisterons pas, attendu qu'elle a fait l'objet d'un mémoire paru antérieurement.*

En résumé, les faits anatomiques actuellement connus ne nous fournissent encore aucune preuve positive au sujet de la nature parasitaire du cancer, la description des coccidies dans les cancers épithéliaux n'offrant pas un caractère suffisamment démonstratif et la nature des *corps à fuchsine* ayant été manifestement interprétée d'une façon erronée.



Psorospermiosis as a possible Cause of Epithelial Tumours.

BY

SHERIDAN DELÉPINE, M.B., C.M., B.Sc.,
 Lecturer on Pathology, St. George's Hospital, London.



1. *Conditions which a parasite must fulfil before it can be supposed to be a possible cause of malignant epithelial tumour.*—If epithelial tumours be the effects of the irritation of tissues due to the growth of a micro-organism, this parasite must have certain special relations to epithelial tissues. Even before such an organism, if it exists, is discovered and submitted to the usual tests, with which every bacteriologist has become familiar, we can surmise some of the conditions which such an organism should fulfil.

It is important to remember that one of the chief tests of the malignancy of an epithelial tumour is metastasis.

Now any cause capable of causing the local growth of any epithelium must also be capable of inducing the production of such a growth in organs where the epithelium in question is not present normally.

For instance, the cause which is supposed to induce the growth of a carcinoma of the mamma must also be capable of inducing that of a tumour having the same anatomical structure (as far as the epithelial elements are concerned) in the axillary glands, or in any of the internal organs.

* Maurice Cazin, *loc. cit.*



FIG. I.

EXPLANATION of FIG. 1.

The bodies represented have been selected from among a larger number of similar bodies demonstrated at one of the meetings of the Bacteriological Section by means of micro-photographs (Nos. 1 to 5) and microscopical preparations (Nos. 6 to 8). Microscopical preparations of the liver containing the last three bodies, and cultivations of rabbit's psorospermiosis were also demonstrated in the Bacteriological Museum. For purposes of reproduction, all the bodies have been redrawn to the same scale, only a few of the surrounding epithelial cells being reproduced to save space.

1. Typical psorosperm in the epithelial lining of a psorospermic cyst or nodule (Papilliferous cystadenoma), rabbit.

2. Two developmental forms of psorosperms in the lining epithelium of a similar cyst (rabbit):—

a. Young psorosperm becoming distinct from surrounding nuclei.

b. A psorosperm with filamentous or rod-like contents, (the appearance represented here has been taken from the photograph which was exhibited, but a more complex arrangement can be seen by direct examination with the microscope).

3. One of the largest forms observed in rabbits: the central nucleus-like body is often indistinct or invisible.

4. A large psorosperm-like body observed in an epithelioma of the vagina (human).

5. An intracellular body connected with the walls of the vacuole containing it by filaments resembling the prickles of prickly cells; probably a result of (endogenous?) multiplication (human vaginal epithelioma).

6. Lining epithelium of a bile duct affected with epithelioma (duct-cancer). One of the cells (and perhaps two others) contains, *besides the nucleus*, a body which seems encapsulated, and which in the fresh state closely resembled young psorosperms (Dr. Dickinson's case of carcinoma of the human liver).

7. An isolated cell from a carcinomatous nodule situated under the capsule of the liver; this cell contains besides the nucleus a psorosperm-like body, which is large enough to displace the nucleus.

8. Peculiar encysted group of small amœboid bodies without distinct nuclei, and resembling some of the forms obtained by cultivation of psorosperms obtained from the rabbit's liver (Dr. Dickinson's case).

For drawings of other forms observed by the author in the rabbit's liver and in cultivations, see papers in the *Transactions of the Pathological Society*:—

1.—Dec. 1889, Vol. XLI., published in 1890.

2.—May 1891, Vol. XLII. „ 1891.

N.B.—Specimens 1, 2, 3 had been stained with prussic acid.

„ 4, 5 „ „ „

„ 6, 7, 8 were drawn from unstained specimens; in 7 the protoplasm of the cell is loaded with precipitated bile pigment.

So long as one deals with connective tissue tumours only, the difficulties raised by this criterion are slight, for by *metaplasia* almost any variety of connective tissue may be produced out of one kind. But no such variation could account for the appearance of a nest of squamous epithelial cells in an inguinal gland, or of tubes lined with columnar epithelium in a mesenteric ganglion, or, in fact, in any non-epithelial organ of the body.

In the present state of our knowledge it is impossible to admit that any kind of irritation may give rise to the formation of epithelial cells (such as those of epithelial membranes, or of glands) out of connective tissues, (and one might almost say out of any tissue of mesoblastic origin, if some obscurity did not still cling to the development of certain organs).

The ultimate results of the work of the great school of Cellular Pathologists, all show that the metastasis of epithelial tumours is the result of the migration through one channel or another of epithelial cells which have become separated from the original growth and continue to grow in the midst of new surroundings.

In order to reconcile such a view, which can be received as true and well proved, with the belief that epithelial tumours are the result of the growth of a parasite, it is therefore essential to admit that the parasite is a cellular parasite, that in its pathogenic stage of existence it lives within the epithelial cells which have become affected, and that it may be carried away with these cells and continue to stimulate them to grow in the midst of surroundings other than the original ones.

But these are not the only requirements which this parasite should fulfil. Unlike most vegetable parasites, it must be capable of multiplying within the cells without rapidly causing their death; it must be capable of causing such an amount of irritation as will lead to a great increase of proliferation with a comparatively slight mortality of cells. It must not interfere much with the nutrition of the cells, some of which must be capable of attaining very considerable size, in fact dimensions which are never attained by cells other than those which retain the generative functions specially.

It must be admitted that all these conditions are fulfilled by none of the bacteria we are acquainted with. There is, however, a peculiar class of parasites, generally placed now among the Protozoa, which seems to possess almost all the properties which I have just enumerated.

2. *Psorospermia* or *Gregarinæ* seem to fulfil many of these conditions.—A careful study of that common disease of rabbits which is known under the name of Psorospermiosis or Gregarinosis will show that amoeboid bodies liberated from encapsulated organisms in the stomach and intestine may from the duodenum ascend into the liver through the bile ducts. These amoeboid bodies are capable of multiplying rapidly, (questions of development may be left aside here,) and give rise to a large number of small amoeboid masses which penetrate into epithelial cells and become undistinguishable from their protoplasm. Within the cells they continue to grow, and, after a time, reach a considerable

size. The host cell is, however, apparently not killed, for nearly all the cells lining a duct may become affected without there appearing to be any distinct trace of the ordinary products of cellular degeneration. The cells may, however, become separated from the basement membrane after being almost entirely replaced by the parasite. (Figs. I., 1, 2, 3).

3. *Psorospermosis produces in the liver of the rabbit tumours similar to papilliferous adenomata.*—The presence of the parasite seems to induce a very rapid proliferation, not only of the epithelial cells, but at the same time of the supporting connective tissue, so that a small duct may become, after a time, transformed into a large tumour, almost entirely composed of branching papillary outgrowths lined with columnar epithelium containing the parasite. The tumour has exactly the structure of a papilliferous cyst, or of a columnar-celled adenoma, Fig. II. Through the effects of pressure these tumours may ulcerate into the veins, and the cells containing parasites, as well as free parasites, may be carried to any part of the body.



FIG. II.

Papillomatous growth of the walls of psorospermic nodules in rabbit's liver (\times about 600).

From a microphotograph, by Mr. Andrew Pringle, of a specimen prepared by the Author, and stained with osmic acid.

All this I can relate as a result of my own observations, which, in the main, corroborate the evidence given by some previous observers. Secondary growths have, however, been described in the tissues by more than one authority, but the available anatomical details are not quite

satisfactory, and I will confine myself to a consideration of the foregoing data.*

If the psorospermic tumours, which we have just alluded to, are examined without any regard to the presence of psorospermia, they must undoubtedly be classified among those adenomatous tumours not unfrequently found in the intestine, ovaries, mamma, and other glands. Between these adenomatous tumours and columnar-celled epitheliomata, there is only a difference of degree, and the only anatomical criterion of any importance that can serve to distinguish the one from the other is the presence or absence of an invasion of the tissues into which the epithelial structures do not normally penetrate. Thus the malignant adenoma of the stomach or intestine is as truly an epithelioma as any other form of epithelioma. The proliferous cysts of the ovary, which under ordinary circumstances do not give rise to metastasis, may, in a few cases, some of which have fallen under my notice, give rise to secondary growths in various lymphatic glands.

I have shown that psorospermic tumours do not always remain limited by the usual boundary of the basement membrane, and have shown the possibility of metastasis. I have not, however, yet been able to find a case allowing me to study the nature of the secondary lesions thus produced.

Putting all these things together, it is, therefore, not unreasonable to suspect a possible relation between psorospermia and epithelial neoplasms.

4. *Result of a search for Psorospermia in a number of tumours observed in man.*—During the last three years, I have, therefore, looked for Psorospermia in the epithelial tumours which have come under my notice at St. George's Hospital, taking note of any appearance which might suggest the presence of these parasites.

The work of Darier soon followed by that of Wickham in France has proved that suspicious bodies resembling psorosperms may be found in Paget's disease of the breast. Several observers have taken up the subject in this country within the last three years, among others Eve and Sutton, who have given good demonstrations of psorospermial lesions in man, without, however, proving their relation to tumour growth; whilst Sileoek, Hutchinson, Sibley, Bowlby, d'Arey Power, have tried to connect their presence in some way or other with processes which have been, more or less, closely associated with tumour formation. I have three years ago tried to prove that this question is not a new one, but there has evidently been here a recrudescence of interest in the subject during the last year. Mr. Jonathan Hutchinson, junr., and Mr. Bowlby have both shown that the bodies described carefully by Darier and Wickham in Paget's Disease of the nipple were generally present in that disease,† so that if the French authors are not mistaken

* For further details, see *Pathological Transactions*, 1890, pp. 346 to 397, and also the *Transactions* for 1891.

† *Proceedings of the Royal Medical and Chirurgical Society*, 1891.

as to the nature of the bodies, their contention should be received as proved. I have seen all the specimens exhibited by these gentlemen, and I am also satisfied that if all the bodies which they have demonstrated be psorosperms, then psorosperms are common enough in certain varieties of epithelial tumours. This statement is, I know, contrary to those of some recent observers. I may remark, however, that only very few of the bodies found in the specimens just referred to had characters which, to my mind, corresponded at all closely with those of undoubted psorosperms.

The tumours which I have found to contain such bodies have been either squamous called Epitheliomata, columnar called Epitheliomata (malignant or progressive adenomata), and duct cancers (practically columnar epitheliomata). Medullary and scirrhus carcinomata have occasionally yielded very clear specimens. I have, of course, looked specially for psorosperms among the tumours of the skin, gastrointestinal tract, and other superficial mucous membranes, but I have also examined numerous other tumours, especially of the mamma with or without affection of the nipple. Psorospermia-like bodies have been found in the following cases :—*

1. Epithelioma (squamous) of the lip (Mr. Dent's case).
4. Epitheliomata (squamous) of the tongue (Mr. Rouse's, Mr. Haward's, Mr. Dent's cases).
2. Epitheliomata (squamous) of the mucous membrane of the cheek or gums (Mr. Pick's cases).
1. Epithelioma (squamous) of the œsophagus (Mr. Rouse's case).
1. Malignant adenoma (columnar epithelioma) carcinoma of stomach (Dr. Cavafy's case).
2. Epitheliomata (squamous) of vulva (Dr. Barnes' and Dr. Champneys' cases).
1. Epithelioma (squamous) of cervix uteri (Dr. Champneys' case).
1. Epithelioma (squamous) of vagina (Dr. Dakin's case).
1. Epithelioma (squamous) of inguinal ganglion; secondary to the above tumour of vulva.
1. Epithelioma (squamous, atrophied) of inguinal gland, secondary to chimney sweep cancer (Mr. Pick's case).
1. Epithelioma of glans penis (Mr. Rouse's case).
- 2 or 3. Epitheliomata of skin (Mr. Pick's and Mr. Turner's cases).

* Photographs taken by Mr. Pringle from specimens of psorospermic nodules on the rabbit's liver, and of an epithelial tumour showing psorospermia-like bodies were projected on the screen to show the great resemblance of these bodies. Preparations of tumours and cultivations of psorosperms were also exhibited in the Museum. The bodies corresponding exactly to those already fully described and depicted by Wickham, Hutchinson and Boulby, are not delineated in the figures accompanying this paper. These figures illustrate only the *bodies which were most like parasites*. I have added drawings of undoubted psorosperms drawn to the same scale. A semi-degenerated encysted cell produced by endogenous multiplication, and with prickles (mitotic filaments) is also depicted (Fig. 1., 5) for comparison.

2. Carcinomata of mamma (Mr. Pick's and Mr. Howard's cases).
2. Cystadenomata of the mamma (Mr. Pick's and Mr. Turner's cases).
1. Cancer of the liver, extending from the opening of the common bile duct in the duodenum to all the main biliary ducts and the gall bladder, and from these to various parts of the organ, giving rise to soft cancerous nodules, some of which resembled closely psorospermie lesions in their distribution (Fig. I., 6, 7, 8).

This case was under Dr. Dickinson's care, and is undoubtedly the most interesting of the whole series. This, however, is the only one I have been able to discover which had any important bearing on the question, because it showed small encysted parasitic bodies, and also larger cysts containing several bodies, apparently the results of multiplication.

I have, therefore, found psorosperm-looking bodies in about 24 cases of epithelial tumours out of a much larger number of such tumours. I do not wish to give exact proportions here, *because I have not examined all the tumours sufficiently carefully* to be able to say that they were free from psorospermoid bodies, and also because I have included in that list *only those cases* in which bodies which were *not clearly* the result of a degeneration or of endogenous multiplication (Fig. I., 5) or of *leucocyte* migration *but distinctly encapsulated* or parasitic looking were found.

Absence of definite proof of the psoropermic nature of these lesions.—Although I fully recognise the resemblance between some of these bodies and certain developmental stages of psorospermia, I have not been able to satisfy myself that they were certainly parasitic protozoa. The more I have studied them, the greater my doubts have grown.

Yet, it must be admitted that the life-history of psorospermia, as far as we know it, makes it difficult to be dogmatic on such a subject. It is only in that stage which corresponds to that of encystment in gregarinae, that they have features which can be considered as unmistakable. Mr. Hutcheson has striven to demonstrate the existence of such forms in Paget's disease, and undoubtedly has succeeded in obtaining by the action of potash appearances which are very much like those of oviform psorospermia. It is, however, strange that when these bodies are found in the rabbit's liver, they can be easily demonstrated by almost any method, and that potash, if anything, obscures their most characteristic features. In the rabbit's liver they can easily be seen even before encystment without staining, and they give very typical reactions with a number of staining reagents. I have, however, been unable to obtain clearly any of those reactions in the epithelial tumours which I have enumerated above. It is true that even in the rabbit I have also failed to obtain definite results with some of the tests in the case of the intestinal psorosperms.

As neither morphological nor chemical characters are of much use, we are driven to look for some developmental characters which might give us some help.

Cultivation of psorospermia.—Psorospermia obtained from the rabbit's liver can easily be cultivated in various media, *e.g.*, nutrient gelatine, or in the clear serum contained in some of the psorospermia cystic tumours. (I have also been able to watch their development in gastric juice and in faeces mixed with water.) The sub-division of their protoplasmic contents into two, four, six, or even more spore-like bodies, can then be observed. The usual number of these is four, and there is usually a stage during which a hooked or sickle-shaped body is evident. These appearances, which have been described more or less completely by Kauffmann, Eimer, Schneider, and others, are very typical. (This part of the subject will be found treated in the Pathological Transactions for 1891.) I have as yet not been able to observe them in any epithelial tumour, with one exception. In Dr. Dickinson's case I have observed some large oval bodies, somewhat larger than rabbit's psorosperms, and containing several rounded ameboid-looking bodies smaller than leucocytes. Those I have figured, as they appeared to me when quite fresh, but I certainly would not feel justified in affirming that they were psorospermia. (See Fig. I., 6, 7, 8).

Conclusions.—I am obliged to conclude, after a somewhat careful study of the question, that the evidences which I have been able to collect are against the psorospermial nature of the bodies which I have observed in epithelial tumours, and I think that the same conclusions must also extend to the bodies observed in Paget's disease of the breast. I am, however, fully alive to the possibility of my having failed to bring out the evidences of independent life I have been looking for; and were it shown to me that they really exist, I should, of course, be quite ready to alter my judgment.

Shattock and Ballance's experiments* seem to point to a similar conclusion; it is, however, as difficult to base negative conclusions on the negative results of inoculation as on those of investigations similar to mine.

Addendum.—I may add that, even if it were proved that *in man* psorosperms or other protozoa were capable of giving rise to tumours similar to those observed in the rabbit, this would not necessarily prove that epithelial tumours, malignant or not, are of parasitic origin in all cases, or that the only parasite capable of causing tumour growth must be a protozoon. I have satisfied myself that many forms of irritative processes can give rise to tumour-like growths (Trans. Path. Soc. 1889, p. 414; 1890, p. 353; 1891, pp. 167-171, etc., etc.), a thing previously demonstrated by a number of observers. It is, however, difficult to explain *why cells carried away from the seat of irritation should still behave as if under the influence of the source of irritation* giving rise to the primary growth; it is on such a ground that one feels tempted to admit the existence of *intracellular* parasites as a cause of cancer, notwithstanding the *serious anatomical objections* which may be opposed to such a view, and the theoretical sufficiency of the old view of perturbed proliferative activity.

* Transactions of the Pathological Society, 1891.

Tumeurs à Coccidies de l'Intestin grêle du Mouton.

PAR

M. ED. NOCARD, Professeur à l'École Vétérinaire d'Alfort.

J'ai l'honneur de présenter au Congrès un fragment d'intestin grêle d'agneau qui m'a été envoyé l'an dernier par M. Degoix, ancien répétiteur à l'École d'Alfort, aujourd'hui Vétérinaire à Avallon.

M. Degoix joignait à son envoi les renseignements suivants :
 “ . . . C'est la 6^{me} bête qui meurt dans le troupeau, après 48 heures
 “ environ de maladie. Les symptômes observés par le propriétaire,—je
 “ n'ai pas vu les malades,—sont : tristesse, abattement, inappétence,
 “ coliques légères, un peu de diarrhée et, quelques instants avant la
 “ mort, un peu de jetage spumeux. J'ai fait deux autopsies qui ne
 “ m'ont permis de relever pour toutes lésions qu'un état congestionnel
 “ de l'intestin grêle ; tous les autres organes sont sains.”

A l'ouverture du fragment d'intestin (M. Degoix me l'avait envoyé lié aux deux extrémités), je fus très surpris de rencontrer, sur une longueur de 20 centimètres environ, sept tumeurs semblables à celles que je mets sous vos yeux. Ce sont de véritables polypes étroitement pédiculés, dont les dimensions varient depuis celles d'un pois à celles d'une noisette.

Les coupes de ces tumeurs montrent qu'il s'agit d'un papillôme ; on y trouve en effet tous les éléments de la muqueuse, hypertrophiés d'une façon gigantesque. Les villosités, les glandes, ont plus que décuplé de volume ; villosités et glandes sont infiltrées d'une quantité considérable de petits corps ovoïdes, réfringents, à double contour, au centre desquels il est impossible de mettre en évidence quoi que ce soit de figuré. Beaucoup de ces corps, qui se laissent très difficilement imprégner par les matières colorantes, ont l'aspect de coquilles d'œuf crevées en un point de leur contour.

En poussant plus loin l'examen, on voit qu'un grand nombre de cellules épithéliales glandulaires sont envahies par le parasite ; il se présente alors sous forme de petits corps arrondis, granuleux, qui augmentent graduellement de volume, refoulant le noyau dans un coin de la cellule, le déformant au point que parfois on n'en retrouve plus qu'une sorte de croissant qui fixe toujours énergiquement le carmin.

Les parasites intracellulaires les plus volumineux sont ovoïdes, et leur contenu semble s'être condensé en un grand nombre de petites masses arrondies (spores) qui sont assez vivement colorées par le carmin.

Il n'y a pas de doute que ces petits corps ne soient des parasites de la même famille que les coccidies du lapin. Ils sont beaucoup plus petits ; leurs dimensions ne dépassent pas 10 à 12 μ . pour le plus grand diamètre, 7 à 9 μ . pour le plus petit.

Ils se distinguent encore des coccidies par ce fait important, à savoir, que leur contenu se contracte toujours en un grand nombre de spores.

Il semble que ces parasites se rapprochent beaucoup de ceux que Balbiani, après Schneider, a classés dans le genre *Klossia*.

Les préparations et les dessins que je sou mets au Congrès me paraissent très-démonstratifs; mais avant d'affirmer en par eillematière, il eut fallu pouvoir étudier ces parasites à l'état frais, et en suivre le développement *in vitro*.

M. Degoix m'a promis de m'envoyer le premier malade qu'il aurait l'occasion d'observer. J'espère être alors plus heureux et pouvoir combler les grosses lacunes de cette observation.

On Bacterial Necrosis of the Liver.

BY

J. HAMILTON, M.B., F.R.C.S.E., Professor of Pathology,
University of Aberdeen.

We are familiar enough with pyæmic abscess and the ordinary yellow infarction within the kidney, spleen, and, to a less extent, the brain. The former of these is caused by septic organisms finding their way into the arteries of the part, while the latter is a necrosis resulting from the meehanieal obstruction of an artery whose distribution is terminal. It is the terminal nature of the renal or splenic eirculation, as the case may be, which predisposes in the latter case to the form of tissue death which we recognise in these organs as yellow infarction. There is no reason to believe that it is ordinarily brought about by organismal invasion. This is substantiated by the mass of necrotic tissue being gradually removed by the living surroundings without occasioning any constitutional disturbance.

Pyæmic abscesses are often met with in the liver, but the ordinary yellow infarct from ischæmia is rare, if ever it occurs. The reason is that the intercommunication of the hepatic vessels is much freer than in the case of the vessels of the kidney and spleen.

Of late years, however, a peculiar necrotic disease of the liver has been described which, in its naked-eyed features, somewhat approaches the common infarct of the kidney and spleen, but which differs from either of these in the fact that in the cases where it has been sought for a vegetable micro-parasite has been found which apparently accounts for the death of the hepatic substance. It is a disease which appears to be common to many of the lower animals, such as the cow, sheep, donkey, guinea-pig, and badger, but cattle seem to suffer from it most. It must be a rare disease in man, but at least one instance of what seems to have been an affection of this nature has been recorded by Murehison and Wilks (Trans., Path. Soc., Lond., Vol. xv., 1864, p. 132). It was said to have followed typhoid fever.

The first account that I can find of the condition is by Eberth (Arch. f. path. Anat., Vol. lxxvii., 1879, p. 29) as occurring in the badger, together with a second instance by the same author, later on (*Ibid.*,

Vol. c., 1885, p. 23) in the guinea-pig. But the most detailed observations on the subject have been made only lately by Selmetz (*Arch. f. wissensch. u. prakt. Thierheilk*, 1888) and by McFadyean of Edinburgh (*Journ. of Comp. Path. and Therap.*, Vol. iv., 1891, p. 46).

I have been induced to bring the present communication before the Bacteriological Section of the Congress on account of having had the opportunity, through the kindness of Professor Shaen of the London Veterinary College, of examining the liver of a donkey presenting a good example of the lesion, and which in respect of the nature and disposition of the organism appears to differ from those previously described.

The lesion as a rule is characterized by the presence within the liver of tumour-like masses. They are usually multiple and may boss the surface or lie deeply embedded within the gland substance. At first sight they resemble neoplasms of a sarcomatous or secondary cancerous type, and no doubt have been mistaken in former times for such. They are yellow or yellowish pink in colour, are round or rounded in shape, and their margin is cut off from the surroundings exactly as in the case of a new growth or a yellow infarction. They are of firmer consistence than the liver tissue, and have no tendency to soften or to suppurate. They vary in size from a pea up to that of a large walnut or small orange. In my own case they were about the size of a pigeon's egg.

When a microscope section is made of one of the nodules, the fallacy of regarding them as neoplasms becomes apparent. It is at once seen, and more especially after staining with logwood, that they are simply necrosed portions of liver tissue in which as yet the outlines of the lobules remain distinct. There is this difference, however, as regards the living and dead parts, that whereas the former absorb colouring reagents deeply, such as logwood, the latter remain quite free from any differential stain. The liver cells within the dead mass also differ from those in the living parts, on account of their peculiar transparency when clarified, the absence of any nucleus and the indistinctness of their outlines.

If examined with either a low or high power, the line of demarcation between the living and dead tissues is peculiarly evident. It does not follow any definite course, but runs in a somewhat irregular line, often through the centre of a lobule, at other times cutting off a small segment from one side. It is thus apparent that the necrosis could not have been caused by the mere mechanical stoppage of one or more of the hepatic blood-vessels but must have been the effect of some agent acting locally upon the tissues. This agent I think is undoubtedly to be found in the micro-organisms resident in the part.

In the present case they were contained exclusively in vessels, sometimes in the main stems or capillaries of the portal, at other times in the corresponding branches of the hepatic vein: a large branch of either of these vessels may be loosely filled with a thrombus-like aggregation, while its capillaries on all sides are distended with the organism. The vessels appear to be practically devoid of blood-corpuscles.

With an immersion lens (Hartnack Imm., No. 1) the organism is seen to be of a round shape and very minute. It is held in masses apparently by means of a homogeneous cementing substance. There is

some difficulty in obtaining it by any of the usual procedures. It colours by Gram's method, but only faintly. Logwood stains it better than anything else, probably owing to the tissue having been hardened in Müller's fluid before I got it. Organisms have been discovered in all the cases examined for them by Schuetz and McFadyean, but those already found have had the form of a bacillus, usually of large size. The organisms in my case, however, differ from those previously found, not only in being of a round shape, but also in having been confined to the blood-vessels, whereas the organism described, for instance, by McFadyean profusely infiltrated the border of the infarction mass. It is probable that in the case which came under my observation the disease had not gone so far as in others which have been recorded, although from the organismal masses having been seen in both the portal and hepatic veins, a certain amount of diffusion must have taken place.

Schuetz moreover found that when pieces of the necrotic tissue were transferred to the anterior chamber of the eye in rabbits, a felt-work of bacilli resulted, which was followed by caseation of the parts. The bacilli also grew when introduced under the skin of the mouse. McFadyean was not so successful in inoculating, and as yet little is known of the characters of the parasite in a pure state.

The surroundings in my case were of interest. There seemed to be an active proliferation of liver cells going on in all parts, but in some more than in others. The cells simultaneously became reduced in size, until it appeared almost as if the nuclei were free, the border of the mass consequently presenting a highly nucleated appearance. Here and there accumulations of small round cells had taken place around the blood-vessels, and also occasionally round the middle-sized bile ducts. There were masses of cirrhotic fibrous tissue also to be seen, sometimes at a little distance from the immediate edge of the living part.

So far as can be gathered from the account of my case, there was not any disease of the intestine which might be regarded as the source of the malady, and such appears to have been the state of matters in the other instances put on record. More accurate examination of the intestine is, however, necessary before coming to any conclusion on this head.

The other organs of the body are usually sound, the disease evidently localizing itself in the liver, and not tending to spread beyond it.

To summarize the main facts derived from this and other cases, it appears :—

1. That the disease is common to many animals.
2. That it consists in the presence of one or more tumour-like masses in the liver, made up of necrosed liver tissue.
3. That these are due to a vegetable micro-parasite which has the power of destroying the tissue in its immediate vicinity, and for some distance around, but which does not tend to induce suppuration or local gangrene.
4. That the disease seems to localize itself in the liver, and does not form secondary deposits in neighbouring organs

L'Infection hémorrhagique bactérienne chez l'Homme.

PAR

le Professeur V. BABES, Bueharest.



On trouve dans une série de maladies infectieuses des hémorrhagies multiples et souvent les symptômes morbides sont dominés par ce phénomène inquiétant.

Mes recherches sur les cas mortels de ces maladies m'ont dès le commencement indiqué que les hémorrhagies dans les cas d'infection secondaire, de même que dans les cas qu'on avait regardé comme primitifs ne reconnaissent pas une cause unique et qu'on a affaire dans tous ces cas à une maladie complexe, ressemblant plus ou moins à une septicémie avec un porte d'entrée, infection, localisation et généralisation.

L'infection hémorrhagique peut se manifester : (1) comme une maladie par plaies, associée ou suivie à un moment donné par des hémorrhagies ; (2) comme association d'une maladie infectieuse aiguë ou chronique ; (3) comme maladie primitive en apparence et on peut y distinguer des maladies sans le caractère manifeste d'une maladie aiguë infectieuse et septique, comme le scorbut, le purpura hémorrhagique, etc., et d'autres dont la nature septique est évidente, comme le typhus pétichial, la variole hémorrhagique, etc.

L'infectiosité et une certaine contagiosité de toutes les formes mentionnées d'hémorrhagie ressortent déjà de l'étude approfondie de la littérature des maladies hémorrhagiques et autres dont l'infectiosité est plus manifeste, comme le typhus exanthématique et certaines formes de variole hémorrhagique.

Je ne peux pas entrer ici dans l'analyse clinique de ces faits, et je me permets d'invoquer en ce qui concerne les preuves de la nature infectieuse et de l'unité des différentes affections hémorrhagiques le travail de *Wilhelm Koch* dans la "*Deutsche Chirurgie*, 1889." Quoique cet auteur ne connût pas encore nos recherches bactériologiques et quoiqu'il donne peu d'importance aux travaux de *Klebs*, de *Ceci*, de *Quincke*, de *Watson Cheyne*, *Virchow*, *Petrone*, *Letzerich*, *Demme*, de moi-même, *Vassale*, *Tizzoni* et *Giovannini*, il est convaincu de l'origine infectieuse du scorbut et des autres infections hémorrhagiques.

On trouve en effet tant de preuves pour la contagiosité de ces maladies qu'il a fallu le préjugé d'une époque dénouée d'une base expérimentale pour les ignorer. On voit que, de même que dans la plupart des maladies épidémiques, il faut pour le scorbut d'abord une prédisposition générale qui est à peu près la même que dans d'autres maladies semblables, et surtout une porte d'entrée aisée pour l'infection. En effet trouve-t-on dans la littérature du scorbut tout ce qu'il faut pour servir de base solide à cette affirmation.

Le scorbut sévit parmi les gens mal nourris, avec lésions du tube digestif ou respiratoire, parmi les blessés portant des plaies, il atteint les affamés et les convalescents, les personnes malades d'affections de

la peau, des yeux ou avec des troubles nerveux profonds, les femmes en couches, etc. Presque dans tous ces cas il faut y ajouter une nourriture ou une eau de boisson qui peuvent renfermer des germes de la putréfaction et qui peuvent bien produire l'infection par les portes d'entrée inadéquates. La marche de l'infection sera, selon l'espèce du virus et du terrain, rapide ou lente, fébrile ou apyrétique.

Il est plus difficile de trouver cette porte d'entrée pour d'autres formes d'infection hémorrhagique, la maladie de Werlhof par exemple et le purpura rhumatismale; cette dernière maladie, fébrile et rémittente, possède sans doute la même porte d'entrée que d'autres arthrites dont la nature infectieuse ne doit pas être mise en doute.

Comme professeur des hôpitaux d'enfants j'avais toujours cherché des cas purs de maladie de Werlhof, mais sans beaucoup de succès. J'y avais toujours trouvé, dans les cas mortels bien entendu, une pharyngite, amygdalite ou une bronchite graves et surtout putrides, maladies dont l'examen est souvent négligé pendant la vie et même à l'autopsie. La maladie de Hennoeh, une espèce de purpura avec exanthème rémittent, coliques, sensibilité de l'abdomen et hémorrhagies intestinales, pourrait très-bien reposer sur une infection intestinale.

M. W. Koch plaide beaucoup pour l'unité de toutes ces maladies et il est même incliné à classer aussi les hémorrhagies secondaires dans son cadre; nous verrons que les récentes recherches bactériologiques, tout en documentant l'origine bactérienne d'un certain nombre de ces maladies, montrent en même temps qu'on ne peut pas admettre leur étiologie unique, comme le veut M. W. Koch, mais qu'il s'agit de virus différents, de même que dans la septicémie.

Au point de vue bactériologique nous pouvons en effet admettre que la plupart des infections hémorrhagiques peuvent être classées parmi les septicémies ou les saprémies.

De même que dans ces maladies on peut distinguer des cas dans lesquels le microbe pathogène pénètre dans les organes et d'autres cas où le microbe agit par ses produits chimiques. Ce serait donc un point de vue unilatéral que de supposer un seul microbe dans l'infection hémorrhagique ou de supposer que ce sont seulement les produits toxiques du microbe qui produisent les différents cas, ou bien le contraire, c'est-à-dire que les microbes de l'infection hémorrhagique doivent être présents dans toutes les hémorrhagies.

J'ai essayé en 1888 (Annales de l'Institut de Path. et de Bact., Bucarest) de classer provisoirement les infections hémorrhagiques, de même que les septicémies, en trois groupes :—

I. Les infections produites par des microbes hémorrhagiques, spécifiques, avec un pouvoir plus stable et plus limité de produire des hémorrhagies multiples aussi chez les animaux d'expérimentation. Ces microbes ont d'une part une certaine analogie avec les microbes septiques spécifiques que j'ai surnommés microbes de la septicémie de Koch, et en particulier avec les microbes de la septicémie hémorrhagique des animaux. On peut y distinguer trois sous-divisions : 1° Formes

où les phénomènes hémorragiques prédominent; 2° Formes où la septicémie est prédominante; 3° Autres maladies bien déterminées associées à une infection hémorragique bacillaire, spécifique.

II. Les infections hémorragiques produites par des microbes qui associés à d'autres microbes pathogènes déterminent d'abord la putridité ou la gangrène et qui gagnent—probablement par leur séjour dans l'organisme—la faculté de faire leur invasion ou de fabriquer des substances solubles toxiques et de produire ainsi une infection hémorragique, d'abord locale et ensuite généralisée.

III. Les infections hémorragiques produites par certaines espèces et variétés des microbes du pus ou par d'autres microbes bien connus comme la cause d'autres maladies. Il faut sans doute un terrain favorable et une virulence particulière de ces microbes pour expliquer les cas souvent foudroyants et étranges qui résultent de l'action d'un streptocoque par exemple, qui ne présente pas dans sa culture des caractères bien particuliers.

Cependant il faut bien appuyer sur le fait que cette classification est loin d'être absolue, mais qu'on trouve souvent des associations des microbes des différents groupes, de sorte que la fréquence des formes mixtes empêche souvent l'interprétation des faits. L'incertitude devient encore plus grande là où il s'agit de différents microbes saprogènes et septiques qui perdent dans leur culture artificielle leur pathogénité spécifique, de sorte que dans ces cas il faut s'appuyer souvent sur la localisation des microbes ou sur l'effet de leurs produits solubles en doses plus élevées. Malgré ces imperfections j'espère pouvoir prouver par un certain nombre d'exemples résumés que nous sommes tout de même arrivés à reconnaître leur étiologie et à classer un certain nombre de faits d'infection hémorragique.

I. INFECTION HÉMORRHAGIQUE BACILLAIRE, SPÉCIFIQUE.

1° *Prédominance des phénomènes hémorragiques.* Sans entrer dans les détails de la description de Klebs, Ceci, Watson Cheyne Petrone, Letzerich, etc., nous nous contentons d'attirer l'attention sur les faits décrits par moi et par *Vassale* en 1888, par *Tizzoni* et *Giovannini* en 1889 et par *Kolb* en 1891. Il faut remarquer que chacun de ces auteurs avait décrit un autre microbe. Celui décrit par moi est un bâtonnet court ou piriforme capsulé avec tendance à former des chapelets; celui de *Vassale* ressemble au microbe de la septicémie hémorragique des animaux; celui de *Tizzoni* et *Giovannini* semble être un bacille saprogène, fin et avec tendance à former des chapelets, celui de *Kolb* est un gros bâtonnet capsulé. Tous ces microbes résistent à la coloration par la méthode de Gram, ne liquéfient point la gélatine et se développent moins bien sur gélatine et sur agar-agar que la plupart des bacilles saprogènes communs sans y montrer des particularités bien prononcées. Dans un de mes cas et dans celui de *Vassale*, le microbe a été associé à un streptocoque ressemblant à celui du pus, et dans les cas de *Tizzoni* avec le staphylococcus aureus.

Tandis que dans la plupart de ces cas on pouvait reconnaître une porte d'entrée des microbes hémorragiques (amygdalite, bronchite, puerpérium, maladies de la peau), dans les cas de *Kolb* une telle porte d'entrée n'est pas mentionnée; il faut cependant remarquer que l'examen ou bien la description du pharynx et des amygdales a été négligée dans ces cas.

Dans les cas de *Tizzoni* et *Giovannini*, le microbe hémorragique existait seulement à la porte d'entrée de l'infection, tandis que dans les autres cas, les microbes existaient aussi dans les organes internes.

Le microbe décrit par moi, possède dans ses vieilles cultures la faculté de former du pus, ce qui indique que la propriété de produire l'infection hémorragique dénote dans ces cas une énergie pathogène plus grande que celle de produire du pus.

Un cas décrit par moi en 1887 (*Orvos egylet*) et reproduit encore dans mon travail sur les septiciémies des enfants de 1889, représente une forme intermédiaire entre ce groupe et le suivant.

C'est une omphalite hémorragique du nouveau-né avec œdème inflammatoire à la porte d'entrée du microbe et hémorragies disséminées dont les plus grandes ont la tendance à suppurer. Le bacille spécifique se présente sous forme de bâtonnets fins, raides, très effilés, de $0.2-0.4 \mu$ de diamètre, résistant à la coloration par la méthode de Gram; il pousse de prédilection à la température du corps sur sérum de bœuf et sur gélose, mais faiblement et seulement dans la profondeur de la gélatine. Il produit chez le lapin des inflammations hémorragiques disséminées; le cobaye résiste souvent; la souris est réfractaire à l'infection. Ce microbe était associé à un streptocoque peu virulent.

2° *Formes avec prédominance des symptômes septiques.* Infection par Kératomalacie: enfant rachitique âgé de 20 mois; autour des ulcères de la cornée on trouve un œdème hémorragique, avec tuméfaction des ganglions voisins, septiciémie et une pneumonie hémorragique. Tous les organes renferment uniquement un bacille qui ressemble à celui de la septiciémie des lapins, dont il diffère cependant par la formation de bulles de gaz dans la gélatine, par les bords fins particuliers, dentellés sur agar-agar, par les extrémités fines et peu colorées, par le polymorphisme et par l'espèce de capsule qu'on remarque autour de lui au microscope, et enfin par l'œdème monstrueux qui se produit chez le lapin autour de l'inoculation.*

D'autres microbes appartenant à ce groupe, produisent une septiciémie hémorragique due à des microbes particuliers. Si la septiciémie y domine, il faut se demander si cela ne dépend pas de la présence d'un microbe banal de l'infection par plaies. Tel est le cas suivant.

Chez un garçon de 12 ans, il existe depuis des années un prurigo devenu eczémateux; dans le dernier temps il se développe des ulcères gangréneux en naissant de certains petits nodules ressemblant à une acnée. Le corps entier est couvert par ces ulcères, nodules et des cicatrices comme des Keloides, de même que par des hémorragies. A

* Sept. Proz., 1889.

l'autopsie on voit des hémorrhagies dans toutes les séreuses, la moelle et les organes internes.

Les organes internes renferment toujours le même microbe qui se présente comme un bâtonnet un peu courbe, aux corpuscules chromatiques, de $0.5\ \mu$ de diamètre. Il se trouve dans les vaisseaux de la peau et dans les foyers hémorrhagiques du poumon sous forme de paquets compacts, à l'intérieur des vaisseaux et des alvéoles; dans la peau il est associé avec un streptocoque. Le bacille liquéfie la gélatine d'une manière particulière avec formation de gaz dans la partie non liquéfiée; il pousse sur agar-agar sous forme d'une plaque jaunâtre transparente; il produit chez la souris des ulcères gangréneux de la peau et une tuméfaction hémorrhagique de la rate.*

Cas de septicémie hémorrhagique pigmentaire.—Homme âgé de 22 ans, présente comme phénomènes morbides: de la fièvre à 41° C., délire, pétéchies, diarrhées sanguinolentes; avant la mort la peau prend une couleur brunâtre et le long des veines superficielles apparaissent des bandes verdâtres. A l'autopsie, faite quelques heures après la mort, tous les organes montrent cette couleur, en même temps qu'une putréfaction précoce. Les amygdales sont tuméfiées et gangréneuses, la rate très tuméfiée et diffluente. Tous les organes renferment en culture pure un bacille saprogène, de $0.5\ \mu$ de diamètre, très mobile, aux extrémités vésiculeuses ou arrondies. Sur pomme de terre ce microbe produit une couleur brune-foncée du liquide au fond du tube. Il est très pathogène pour le lapin, le cobaye et la souris, qu'il tue avec une espèce de septicémie avec hémorrhagies et avec la même couleur brune-foncée des organes et surtout de la rate tuméfiée.

Ce microbe produit une dégénérescence particulière hyaline des parois des vaisseaux sanguins. Une substance, de la nature d'un ferment soluble, tirée de la culture pure du microbe possède la propriété de tuer les animaux avec les mêmes phénomènes.†

3° *Formes hémorrhagiques des différentes maladies aux manifestations hémorrhagiques.* La dysenterie ou d'autres processus gangréneux du gros intestin se compliquent souvent d'hémorrhagies multiples. Ainsi dans un cas (décrit par moi en 1887, v. Orv. egyet et Septische Process, des Kind., 1889) une diarrhée chronique s'est transformée en septicémie avec diarrhée fétide et hémorrhagique, ulcérations hémorrhagiques des gencives, fièvre et mort. On y trouve une inflammation gangréneuse et hémorrhagique du gros intestin et des hémorrhagies disséminées des organes, tuméfaction, pigmentation et ramollissement de la rate. Ici les glandes de l'intestin modifié renferment les mêmes microbes que les organes internes. Il s'agit d'un protens liquéfiant très vite la gélatine et produisant la mort des lapins dans 1 à 3 jours avec une entérite hémorrhagique sans qu'on eût retrouvé les bacilles dans les organes des animaux.

Peut-être un second cas d'entérite hémorrhagique rentre dans ce même groupe. Il s'agit d'un homme âgé de 25 ans qui succombe avec

* Sept. Proz., 1889.

† Ann. de l'Inst. Pasteur, 1890.

des symptômes méningitiques. On trouve une inflammation hémorragique étendue du colon ascendant en même temps que des hémorrhagies dans les séreuses et surtout des plaques étendues hémorrhagiques des méninges. Ici on trouve dans le foie des bacilles appartenant au *proteus* liquéfiant la gélatine, mais sans qu'on ait fait des inoculations aux animaux. Les méninges hémorrhagiques renferment le *staphylococcus aureus*.

Dans un troisième cas, encore plus compliqué, il s'agit d'une femme morte après avoir avorté à la suite de sa maladie, qui consistait en diarrhées profuses, fétides, hémorrhagiques. A l'autopsie on trouve des hémorrhagies dans tous les organes et une entérite hémorrhagique avec nécrose commençante des couches superficielles. Dans tous les organes on trouve un streptocoque peu virulent; dans le sang et dans le poulmon il existe en même temps un microbe lancéolé capsulé, ressemblant à celui de *Pasteur-Fränkcl*. Ce microbe est très virulent pour le lapin qu'il tue avec des symptômes de septicémie.

Dans un cas de pneumonie septique et hémorrhagique chez une femme âgée de 40 ans, souffrant d'une pneumonie avec ictère catarrhale qui se complique de phénomènes septiques et de purpura, on constate à l'autopsie de vastes hémorrhagies, en partie infarctiformes, du poulmon. Les hémorrhagies pulmonaires et le foie renferment un microbe qui ressemble parfaitement sur les substances de culture au microbe de la septicémie des lapins (*Koch*); il en diffère peut-être par sa plus grande virulence pour le cobaye qu'il tue avec des inflammations aiguës des séreuses et tuméfaction hémorrhagique de la rate.*

Dans un cas de variole hémorrhagique on trouvait à l'autopsie une gangrène étendue particulière des muqueuses du pharynx et de voies aériennes qui ont été couvertes d'une couche d'une substance épaisse jaunâtre. On y trouvait de même que dans les organes et les pustules un bacille fin, bien défini, mal coloré par la méthode de Gram et qui par ses cultures pures et fraîches donne une septicémie aiguë aux lapins et aux souris. Cependant il perd rapidement cette qualité. Au commencement ce bacille ressemble au bacille de la septicémie des lapins décrit par *Koch*.*

Enfin dans une tuberculose pulmonaire avec bronchite ichoreuse, des ulcères intestinaux hémorrhagiques et du purpura, on isola de la muqueuse des bronches au milieu de la sécrétion fétide, de même que dans les hémorrhagies et le péritoine, un streptocoque associé avec un microbe piriforme de 0.5μ de diamètre, qui ne se colore pas par la méthode de Gram, qui se développe sur gélose et sérum tout comme le microbe décrit en premier lieu. Il produit chez le lapin une septicémie mortelle avec des inflammations hémorrhagiques multiples et souvent des abcès.†

II. Ces cas d'association d'un microbe septique et hémorrhagique avec une autre maladie passent sans limite bien nette dans le second groupe

* Ann. de l'Inst. de Bucarest, 1889.

† Congrès de la Tuberc., 1889.

des infections hémorrhagiques, où je suis disposé d'admettre l'action des microbes banals de la putréfaction. J'avoue que je n'avais pas trouvé pour affirmer cette action d'autres preuves que les suivantes :—

1. La présence constante de certains microbes saprogènes dans les foyers d'où part incontestablement l'infection hémorrhagique, en même temps que dans certains organes et dans certaines localisations secondaires.
2. Dans certains cas la pathogénité de la première culture du microbe.
3. L'absence des microbes saprogènes dans la plupart des cas de maladies non infectieuses.

Je crois inutile de donner ici des exemples de ces cas très fréquents, surtout dans la tuberculose avec gangrène des cavités et des muqueuses, dans la variole présentant des inflammations gangréneuses des amygdales et des voies aériennes, ou bien des néphrites ascendantes avec une gangrène spéciale des muqueuses uro-génitales, ou bien du rein.

III. Passons au troisième groupe de ces infections produites par des microbes du pus, surtout un streptocoque possédant la faculté spécifique, mais passagère, de produire une septicémie hémorrhagique.

J'ai décrit en 1888 plusieurs cas de cette forme d'infection et depuis M. Hanot et d'autres ont confirmé mes vues.

Voici quelques exemples de cette infection. Chez un enfant, après avoir présenté des douleurs rhumatismales, qui d'ailleurs ont disparu, il se développe un état de faiblesse générale rapide, avec une légère fièvre; deux jours après apparaissent des douleurs atroces dans l'abdomen, un purpura et des vomissements sanguinolents. L'enfant meurt après quelques heures. A l'autopsie on trouve de grandes ecchymoses disséminées dans les tissus et les organes profonds, le foie extrêmement mou et fragile, gris-jaune, la rate gonflée, très molle, rouge-noire. L'examen microscopique montre le fait étonnant que les capillaires du foie sont partout remplis de streptocoques et le parenchyme du foie ne se colorait plus avec les couleurs d'aniline. La culture de ce streptocoque est extrêmement virulente et produisait après piquûre cutanée une septicémie mortelle chez les lapins et la souris.*

Une jeune femme, au sixième mois de sa grossesse est atteinte de fièvre, toux, ictère, de purpura; elle avorte et meurt après quelques jours. A l'autopsie on trouve des ecchymoses multiples et des foyers hémorrhagiques du poumon; la muqueuse du colon est infiltrée d'une manière diffuse par du sang; le foie est gros, pâle, flasque, gras. Les reins sont pâles, mais la muqueuse du bassinet est épaissie, granuleuse et infiltrée de sang. Tous les organes étaient envahis par un streptocoque, qui se trouve en grandes masses surtout dans le foie et qui est virulent pour la souris et le lapin.

Un ouvrier est atteint en pleine santé d'une fièvre septique, de purpura, qui après une semaine amenait le mort. A l'autopsie on trouve une amygdalite assez prononcée, un peu fétide et au commencement du

* Ann. de l'Inst. de Bucarest, 1888.

elon une ulcération irrégulière, circulaire, à la base hémorrhagique et entourée d'hémorrhagies multiples. C'est évidemment de ce point que part une dissémination d'eeehymoses dans tous les tissus et tous les organes. Au fond de l'ulcération, de même que dans les organes présentant une dégénérescence parenchymateuse on trouve un streptoeoque virulent pour le lapin et la souris.

Dans ces cas le rôle du streptoeoque était très évident, ear il se trouvait dans les organes affectés en culture pure et en masses énormes ; il était au eommeneement plus virulent que les streptoeoques du pus, mais on ne réussit pas à trouver des différences stables entre les microbes de ces maladies.

J'ai souvent insisté sur le fait qu'il existe une série de streptoeoques qu'on ne doit pas confondre ; ainsi j'avais décrit en 1886 (Orv. egyl., et dans mon ouvrage Sept. Proz., 1889) le streptoeoque septique liquéfiant, des streptoeoques capsulés, le streptoeoque géant. Mais aussi les streptocoques du pus et des septiciémies, quoiqu'ils montrent beaucoup d'analogie dans leurs cultures, ne sont pas toujours les mêmes. Il serait par exemple précipité de vouloir établir un seul streptoeoque comme cause du phlegmon ; il est même probable qu'il existe plusieurs variétés naturelles de ee qu'on appelle des streptoeoques pyogènes. Il est donc bien possible que les streptoeoques des septicémies aux hémorrhagies multiples possèdent certaines propriétés constantes par lesquelles ils se distinguent des streptoeoques du pus, mais qui n'ont pas eneore été mises en évidence.

La différenciation exacte des variations naturelles des microbes dans les différentes maladies, est devenue l'objet d'études assidues des savants, mais avant que ces recherches soient terminées, la plus grande réserve s'impose.

En ee qui eoneerne l'infection hémorrhagique nous sommes heureux d'avoir déterminé le rôle essentiel de certains microbes dans certains cas de ee groupe de maladies et de pouvoir eontinuer sur une base plus solide leur étude plus approfondie.

The Morphology of Actinomyces.*


BY

Professor E. M. CROOKSHANK, M.B.

Professor Crookshank stated that Dr. Acland, who had been the first to recognise a case of actinomycosis hominis in England, had been the first also to employ in these cases the method of Gram. The result had been to bring out in a new and peculiarly striking manner the central core of filaments, and at the same time the elubs were unstained

* Abstract of remarks accompanying lantern demons tration.

and overlooked. These appearances had even puzzled Dr. Israël, and it was thought possible that there were two forms of actinomycosis in man,—the organism in the one form corresponding with the organism in the disease in cattle, and the other characterised by the absence of clubs and the presence of a dense network of excessively fine filaments. Professor Crookshank had subsequently examined this case, and succeeded, though with difficulty, in demonstrating the presence of clubs, but at the same time was greatly impressed by the striking difference in the appearance of the fungus in human and bovine sections. A minute investigation of the fungus in the Brompton case revealed exquisite tufts of club-shaped structures, identical with those found in cattle, while cover-glass preparations of the crushed tufts and tissue sections stained by the method of Gram brought out the delicate mycelial structure which had proved so puzzling in Dr. Aeland's specimens. Since these early observations Professor Crookshank had examined nearly 50 cases of bovine actinomycosis, and no less than nine cases of the disease in man. There is a difference, which is almost constant:—in bovine sections the clubs are, as a rule, distinctly stained, the central portion of the rosette remaining unstained, while in human sections the clubs remain, as a rule, colourless, and the central portion exhibits a dense network of stained filaments. It had been suggested that possibly in human cases the mycelial filaments belonged to a separate fungus growing in the track of the ray fungus, but by staining by Gram's method and with rubin it could be demonstrated that the blue filaments passed directly into the club-shaped elements. The question then arose whether the filaments were peculiar to the disease in man, and Professor MacFadyean brought forward a case of actinomycosis of the spermatie cord of an ox, in which he found filaments as well as eoci, the latter being probably identical with the granules (*körnehen*) described by Israel. Professor Crookshank then described a case similar to Professor MacFadyean's. He had received a tumour from the check of an ox from Mr. Park, Government Veterinary Surgeon, of Tasmania. In this Australian case, as in MacFadyean's case, the fungus was strikingly different from the form usually found in cattle. The appearances, however, were not absolutely identical with those observed in man. In conclusion, Professor Crookshank did not consider that the presence of filaments in these two exceptional cases in cattle was proof that exactly similar filaments existed at one stage or another in every case of bovine actinomycosis. On the contrary, while regarding the disease in man and cattle as identical, he was convinced that it was found under different circumstances to be associated with distinct varieties of the same species of fungus.



Demonstration of some pathogenic Moulds found in Inflammatory Lesions of the Skin, External Auditory Meatus and Lungs, and of the effects of Temperature and of Pabulum on their Growth and Vital Concurrence.*

BY

SHERIDAN DELÉPINE, M.B., C.M., B.Sc., Lecturer on Pathology, St. George's Hospital, London.



The moulds cultivated were (with the exception of the *Penicillium*) obtained from human organs.

Aspergillus niger.—From an ulcer of the skin of the leg, occurring whilst the leg was kept in splints for fracture. (Mr. Rouse's case.)

Aspergillus fumigatus.—From the external meatus of the ear of a patient suffering from chronic external otomycosis. (Mr. Bull's case.)

Oidium.—Resembling closely the *oidium lactis*. Obtained from the sputa of a patient with chronic broncho-pneumonia and adynamia. There was no bacillus tuberculosis, but an extraordinary number of mycelial filaments and square segments resembling gigantic bacilli. (Dr. Lauder Brunton's case.)

After separating these organisms by repeated cultivation at a temperature of 35° to 40° C., they were cultivated in various media, and at various temperatures, to find how their character could be altered, and why they differed from ordinary saprophytic moulds. For comparison the ordinary *Penicillium glaucum*† was grown side by side with them.

The following results were obtained, and the cultivations proving them were exhibited in the Museum :—

I.—EFFECTS OF NUTRIENT MEDIA.

A.—*Aspergillus niger* (20° to 40° C.).

1. *On potato*.—Grows well. Mycelium yellow and abundant; conidia dark brown, abundant.

2. *On pure starch*.—Grows more slowly. Mycelium generally colourless, spreading rapidly; conidiophores few and discrete (production of glucose abundant).

3. *On pure cellulose and distilled water*.—Grows more slowly. Mycelium often pale yellow; conidiophores discrete but proportionally more abundant than on starch (production of glucose).

4. *On gum Arabic*.—Grows rapidly. Mycelium very abundant; conidia few (extraordinary amount of oxalate of lime produced, also acetic acid and glucose).

5. *In distilled water*.—Extremely slow growth of mycelium.

* This demonstration was given in the Bacteriological Museum.

† Taken as a type of purely saprophytic moulds.

6. *On solid paraffin* moistened with distilled water. Growth more abundant than in distilled water. Conidia produced, but conidiophores abnormal.

7. *On pure gelatin*.—Growth slow. Mycelium scanty, colourless, spreading; conidiophores discrete (production of gelatoses).

8. *In watery solution of peptones*.—Growth very slow. Mycelium and conidia scanty.

9. *On coagulated egg albumen*.—Growth extremely slow. Mycelium colourless; conidiophores discrete.

10. *On coagulated hydrocele fluid*.—Growth slow. Mycelium not abundant; conidiophores discrete (production of albumoses).

11. *On peptonised gelatine* (ordinary nutrient gelatine).—Growth pretty rapid. Mycelium very slightly coloured; conidia abundant (gelatine liquefied production of crystalline extractives, abundant production of oxalate of lime).

12. *On glycerine agar-agar*.—Growth slow. Mycelium scanty, bright yellow; conidia very abundant, hiding almost entirely the mycelium (production of oxalate of lime abundant).

13. *On human muscle*.—Growth extraordinarily rapid. Conidiophores very large; conidia extremely abundant, paler and redder in colour than in other cases.

14. *On human fat*.—Growth slow. Mycelium thick, felty, white; conidia appearing slowly.

15. *On human epidermis*.—Growth pretty rapid. Mycelium spreading rapidly, but not thick; conidia pretty abundant.

B.—*Aspergillus fumigatus* (temperature 20° to 40° C.).

Grown on the same media with the exception of 5, 6, 8, 10, 13, 14, 15.

Grows *less readily than the Aspergillus niger*, on starch and cellulose; *more readily* on egg albumen and agar-agar. This is interesting as the *Aspergillus fumigatus* is distinctly a more virulent parasite than the *niger*. The aspect of the *Aspergillus fumigatus* is very variable.

On potato the conidia are at first bluish green, then dark green, and finally smoky green.

On agar-agar and mucilage they are of a pale greenish blue colour for a long time, but ultimately get dark.

On egg albumen they are almost black.

The most abundant growths in the case of both aspergilli were obtained on potato.

C.—*Oidium* (temperature 20° to 40° C.).

1. On potato.

2. On nutrient gelatin.

3. On agar-agar (glycerine).

The fungus grew well on either of these media, other media had not been tried at the time of the exhibition.

II.—EFFECTS OF TEMPERATURE.

(Note.—In all the cases here recorded there was a slight variation in the temperature of the incubators, this variation occasionally amounted to 2° Cent. The higher temperature indicated always corresponds to the maximum, and the lower to the minimum attained.)

On almost any of the media described above it was found that according to temperature it was possible to grow these fungi and the *Penicillium glaucum* more or less rapidly.

A.—The *Penicillium glaucum* grew well from 15° to 25° C., above this temperature it grew slowly, its growth was almost entirely arrested at 30° C., the vitality remaining unimpaired (non-pathogenic).

B.—The *oidium* when started growing at a temperature of from 35° to 40° C., continued to grow well but slowly below 20° C., the growth was difficult to start from the original material at the lower temperature.

C.—The *Aspergillus niger* grew well between the temperatures of 20° and 40° C. It grew best between 30° and 35° C., but the formation of conidia was still abundant up to 40° C., above that temperature the mycelium formed a kind of thick felt-like mass and few or no conidia were produced. Below 20° C. the growth of mycelium took place very slowly, and the production of conidia was almost entirely arrested. But when started at a higher temperature, the growth continued at the lower temperature.

D.—The *Aspergillus fumigatus* grew best between 35° and 40° C., and conidia were abundantly produced even above that temperature. The fungus grew badly below 25° C.

III.—VITAL CONCURRENCE OF PATHOGENIC AND NON-PATHOGENIC MOULDS AT VARIOUS TEMPERATURES.

Potatoes (being found to be at all temperatures the best nutrient medium for all the moulds just enumerated), were used in the following experiments:—

Several covered shallow capsules were prepared as follows:—in each, two equal thin potato slices were placed and sterilised, then the centre of each was inoculated, the first with one kind and the second with the other kind of mould, and after this they were placed in an incubator kept at a temperature at which one of the moulds or the two moulds could develop. Control experiments were made in each case.

It was then found that between 15° and 20° C., the *Penicillium glaucum* developed rapidly, preventing more or less completely the growth of the *Aspergillus niger* and of the *Aspergillus fumigatus*. Between 20° and 30° C. the *Aspergillus niger* and the *Penicillium* grew well side by side. Near 20° C. the *Penicillium* was in excess, near 30° C.

the aspergillus. Between 30° and 35° the *Penicillium glaucum* ceased entirely to grow.

Between 30° and 35° the *Aspergillus niger* rapidly grew over the the *Aspergillus fumigatus*, the growth of which it rapidly stopped. Between 35° and 40° C. the two aspergilli grew side by side. Near 40° the *Aspergillus fumigatus* overcame the *A. niger*. Above that temperature the *Aspergillus fumigatus* remained alone visible.

It is to be noticed that in many cases the temperature alone was not enough to stop the growth of one of the moulds; this is shown by the experiments recorded above, so that the presence of the other mould must have had a restraining influence.

At any stage of these experiments the order of things might be reversed by simple alteration of temperature.

These experiments show in a very clear manner the *relations there are between the temperature and the pabula favourable to the growth of fungi and their pathogenic characters*. They show also that some of the chemical products of their metabolism depend on the media upon which they grow more than upon their own selves.

Finally they prove that in the fight for existence, *if two moulds are placed under conditions which allow the growth of both*, but which are ever so little more favourable to the one than to the other, *the favoured one will not only outgrow the other, but will even prevent its development*.

That which is true of two moulds may also be true of a pathogenic organism, and of the organism that may serve as a host.

These experiments are brought forward simply owing to the clearness with which they prove these views, which are of fundamental importance in the study of the original development of parasitic diseases.

Wednesday, 12th August 1891.

The Chair was occupied by

The President, SIR JOSEPH LISTER, Bart.

De l'Immunité : Immunité Acquise et Immunité Naturelle.

PAR

le Dr. Roux, Chef de Service à l'Institut Pasteur, Paris.

En invitant un élève de M. Pasteur à parler aujourd'hui devant vous de l'immunité, le comité d'organisation de ce congrès s'est souvenu que tous les travaux si intéressants faits récemment sur cette

question ont pour point de départ l'atténuation des virus et les vaccinations préventives.

Comment en effet étudier l'immunité si nous ne pouvons la donner à volonté? Nous devons donc, Messieurs, commencer par exposer les procédés d'immunisation, car c'est de l'immunité acquise que nous nous occuperons tout d'abord, puisqu'elle se prête mieux à une étude expérimentale.

Autrefois, la seule manière de conférer l'immunité était l'inoculation du virus même de la maladie, seule, la vaccination Jennerienne faisait exception. Au procédé d'immunisation, si souvent dangereux, qui consiste à employer le virus tel que la nature nous l'offre, M. Pasteur a ajouté celui des inoculations préventives par virus atténué. L'atténuation peut être graduée au gré de l'expérimentateur de façon à fournir des variétés de microbes plus ou moins actifs, mais capables de transmettre à leurs descendants leur virulence atténuée. Le nom de virus atténué doit être réservé aux virus qui restent atténués dans leurs générations successives. Un virus peut, en effet, devenir inoffensif sans être pour cela un virus atténué. Il suffit que les microbes qui le constituent soient atteints dans leur vitalité, qu'ils germent lentement pour ne causer aucun mal aux animaux; mais, ce virus ainsi modifié retrouve aussitôt ses qualités meurtrières quand il est rajeuni par la culture, tandis que l'atténuation véritable est héréditaire.

M. Pasteur a fait connaître deux méthodes principales pour atténuer les virus, à savoir : l'action prolongée de l'air sur les cultures faites à température convenable et le passage par des espèces animales différentes. On a employé dans le même but l'action de la chaleur, des antiseptiques, de l'oxygène comprimé, de la dessiccation et de la lumière. Tous ces procédés, Messieurs vous sont familiers et leurs auteurs vous sont bien connus, je ne les décrirai donc pas, je me bornerai à faire remarquer qu'en général, pour obtenir une atténuation vraie, il faut que l'action atténuatrice s'exerce lentement, les actions rapides et brutales peuvent rendre un virus inoffensif, il est exceptionnel qu'elles lui impriment l'atténuation héréditaire.

Quelle que soit, d'ailleurs, la manière dont il est préparé, le virus atténué pour conférer l'immunité est introduit dans le corps; il faut qu'il vive au contact des tissus de l'animal pour le préserver. L'immunisation par virus vivant a été découverte la première et est encore la seule employée pratiquement; mais, depuis quelques années nous connaissons un autre procédé pour donner l'immunité. Dans cette méthode nouvelle, au lieu d'injecter aux animaux la culture vivante, on sépare les microbes qu'elle contient, ou bien on les fait périr pour ne garder que les produits qu'ils ont élaboré pendant leur vie. Ce mode d'immunisation est appelé vaccination chimique par opposition à la vaccination microbienne, il a été tenté d'abord par M. Pasteur pour le choléra des poules et par M. Toussaint pour le charbon; M. Chauveau a puissamment contribué à l'établir; mais la vaccination chimique a été définitivement démontrée par les recherches de MM. Salmon et Smith, Woolridge, Beumer, Charrin, Chamberland et Roux, Chautemesse et Widal, Gamaléia.

Il n'est donc pas nécessaire, pour que l'état réfractaire soit acquis, que les microbes pénètrent dans le corps, il suffit que les substances préparées dans les cultures artificielles y soient introduites. Si donc, en pullulant dans l'organisme, les microbes donnent l'immunité, c'est sans doute parce qu'ils y fabriquent les mêmes produits chimiques que nous trouvons dans les cultures *in vitro*.

Lorsque les cultures privées de microbes sont injectées à doses trop fortes, elles provoquent chez les animaux des symptômes tout à fait semblables à ceux que l'on observe dans la maladie spontanée. D'où il est naturel de conclure que les microbes parasites agissent par leurs produits chimiques, véritables poisons, spécifiques pour chacun d'eux, et qui déterminent chez l'homme et chez les animaux le tableau symptomatique de la maladie. La virulence des microbes est non seulement leur aptitude à vivre dans le corps des animaux, mais encore la propriété qu'ils ont d'y former des toxines. Plus les microbes sont virulents plus ils sont toxigènes et parmi eux, ceux qui causent les maladies les plus terribles, se distinguent comme fabricants de poisons particulièrement actifs. La maladie infectieuse est donc un empoisonnement; la source du poison est le microbe installé dans les tissus; il y élabore sa toxine aux dépens de la substance même de l'être vivant qu'il va faire périr. Une preuve qu'il en est ainsi, c'est que du cadavre nous pouvons retirer les mêmes poisons que ceux que nous trouvons dans les cultures.

La culture stérilisée d'un microbe virulent donne, suivant les doses, la maladie ou l'état réfractaire. La connaissance des substances contenues dans ces cultures est donc d'une importance très grande pour l'étude de l'immunité. Pour mettre leur action en évidence il faut supprimer celle du microbe vivant qui les accompagne; nous pouvons par exemple tuer le microbe par la chaleur ou le séparer mécaniquement par la filtration, à la condition toutefois qu'en nous débarrassant des bactéries, nous n'altérions pas, du même coup les substances qu'elles ont formées. Les produits microbiens sont souvent très altérables, si quelques-uns supportent des températures élevées, il en est d'autres qui sont déjà modifiées à 50°, température impuissante à tuer sûrement les microbes, or il suffit que quelques-uns persistent pour que la conclusion de l'expérience soit faussée. La filtration sur la bougie Chamberland rend de grands services dans ces recherches, mais elle n'est pas toujours applicable. Elle arrête sûrement les microbes, mais parfois elle arrête aussi les matières chimiques qui restent fixées à la terre poreuse. Les bactériologistes sont donc souvent embarrassés pour savoir si un liquide contient ou non de ces corps délicats que les manipulations détruisent; cela est surtout vrai quand on opère sur le sang ou les liquides de l'organisme. Un procédé qui nous a réussi consiste à tuer les microbes par des essences. Celles-ci n'altèrent point les matières albuminoïdes ni les diastases, et elles ont un pouvoir antiseptique très énergique, ainsi que l'a établi M. Koeh, M. Chamberland et d'autres expérimentateurs. Les essences d'ail et de moutarde par exemple, malgré que leur solubilité dans les liquides soit très faible, font promptement périr les microbes qui ne forment pas de germes. De plus, ces essences sont volatiles; quand elles ont agi, on évapore le liquide dans le vide, il reste un résidu

qui n'a subi aucune réaction brutale et qui renferme les produits microbiens fixes. Du sang charbonneux, de la pulpe de rate charbonneuse, traités par l'essence de moutarde, donnent facilement aux moutons et aux lapins l'immunité contre le charbon. Pour obtenir ce résultat avec les mêmes liquides filtrés ou chauffés à 58° il faudrait en injecter des doses bien plus fortes. M. Foa a trouvé dans les organes des lapins morts de pneumonie des produits capables de donner l'immunité contre cette maladie, il est facile de réaliser cette vaccination chimique avec la rate et le sang d'un lapin pneumonique, après qu'on a tué les pneumocoques par les vapeurs d'essence. Nous pensons que l'usage de ces antiseptiques volatils pourra rendre des services dans bien des cas.

Une autre difficulté dans l'étude des produits microbiens, c'est qu'ils ne se forment pas toujours dans nos milieux artificiels. Dans les cultures du bacillus anthracis en bouillon, il n'y a pas de matières actives en quantité appréciable. Elles sont au contraire faciles à mettre en évidence dans une culture faite dans du sang défibriné, surtout si on a pris comme semence la bactérie asporogène, dont on peut ensuite facilement se débarrasser. Les microbes n'élaborent donc pas les mêmes produits dans tous les milieux, et tel qui fait facilement des poisons dans les corps des animaux n'en forme plus que très peu dans nos bouillons.

Quelle est la nature de ces corps actifs préparés par les microbes et qui jouent un rôle si important dans la production de l'immunité ? Au début des travaux sur le sujet, on était disposé à les considérer comme des alcaloïdes et M. Brieger a isolé plusieurs ptomaines des cultures microbiennes. Aujourd'hui on a reconnu que, dans la majorité des cas, ces substances actives sont des matières protéiques ou se rapprochant des diastases. Leur activité est tout à fait comparable à celle des enzymes et dans nos liquides les plus toxiques elles n'existent qu'en quantité impondérable. Elles sont difficiles à isoler, et encore trop peu définies comme espèces chimiques pour que leur analyse nous renseigne d'une façon précise. Nous devons applaudir aux efforts des expérimentateurs tels que MM. Brieger, Woolridge, Hankin qui ont entrepris de les préparer. Il serait en effet du plus haut intérêt de les avoir à l'état de pureté pour bien régler leur action, surtout si, comme il est permis de le prévoir, elles entrent dans la thérapeutique.

Nous avons dit, Messieurs, qu'une même culture privée de microbes pouvait, selon les doses injectées, être vaccinante ou toxique. Les substances qui tuent sont-elles les mêmes que celles qui immunisent ? Vous concevez toute l'importance d'une semblable question ; en effet, si la matière vaccinante est différente de la matière toxique, il suffira de l'isoler de celle-ci pour conférer avec elle l'immunité sans danger. M. Bouchard pense qu'il en est ainsi et son idée est très séduisante. Il n'y a rien d'impossible, à priori, à ce qu'un microbe en vivant dans un milieu y produise plusieurs corps, les uns bienfaisants, les autres nocifs. MM. Charrin et Arnaud ont donné l'immunité aux lapins contre la maladie pyocyannique, avec des substances retirées des cultures et qui ne paraissaient plus toxiques. Cependant la partie de la culture la

plus toxique est aussi celle qui vaccine aux plus petites doses. M. K. Fränkel rend les cobayes réfractaires à la diphtérie en leur injectant le liquide toxique des cultures chauffé à 65°; M. Roger constate que les cultures d'érysipèle chauffées à 100° sont toxiques et ne vaccinent pas, mais qu'elles donnent l'immunité lorsqu'elles ont été portées à 110°. Dans ces deux cas la chaleur a détruit le poison et laissé le vaccin. Il serait prématuré de généraliser ces résultats qui sont peut-être susceptibles d'une autre interprétation. D'ailleurs ces substances vaccinantes ne sont point inoffensives si on les injecte à fortes doses et l'on ne peut pas dire que l'on ait complètement réussi à séparer la fonction vaccinale de la fonction toxique.

L'immunité produite par les vaccins chimiques est-elle aussi durable que celle donnée par les vaccins vivants? Nous manquons d'expériences assez étendues pour nous prononcer définitivement; nous pouvons dire toutefois que pour le charbon et la pneumonie, l'état réfractaire donné par les microbes vivants persiste plus longtemps que celui qui est conféré par les produits solubles.

Au début des essais sur la vaccination chimique on pensait qu'elle donnerait une sécurité plus grande que la vaccination microbienne, puisqu'elle n'introduirait rien de vivant dans le corps et qu'avec elle il n'y a pas à redouter ces retours à la virulence, que l'on peut craindre avec les virus atténués. On n'a pas été longtemps à s'apercevoir que l'injection des produits microbiens n'est pas sans danger, même quand on ménage les doses; certaines qui sont bien supportées d'abord, agissent à longue échéance et causent des dégénérescences qui peuvent devenir meurtrières.

Maintenant, Messieurs, que nous avons passé en revue les divers procédés d'immunisation, demandons-nous comment ils agissent et quels sont les changements qui font d'un animal réceptif un animal réfractaire? On a comparé tout d'abord les modifications produites dans l'organisme immunisé, à celles qui ont lieu dans un milieu inerte où les microbes ont vécu. Dans cette conception simple, l'individu sensible à la maladie est un milieu de culture favorable, et l'individu rendu réfractaire, un milieu impropre à la vie du microbe. Celui-ci en vivant une première fois dans le corps a épuisé certains matériaux qui lui sont nécessaires ou bien y a laissé certaines substances qui lui sont nuisibles. Les expériences que nous avons rapportées sur la vaccination chimique ont définitivement écarté la première explication, en même temps qu'elles ont fourni un appui à la seconde. Ces substances empêchantes que l'on invoquait tout d'abord à titre d'hypothèse, sont précisément ces produits que les microbes élaborent dans l'organisme des animaux comme dans les milieux artificiels et qui donnent l'immunité. Restés dans les tissus, ils entravent une nouvelle croissance du virus et produisent l'état réfractaire. Pour vérifier s'il en est ainsi, retirons un peu de sang des vaisseaux d'un lapin vacciné contre le charbon et ensemençons-le avec de la bactérie. Celle-ci y pullule rapidement, il n'y a donc pas dans le sang de cet animal réfractaire au charbon de substance qui s'oppose à la vie du bacille de cette maladie. Cette expérience est

grossière il est vrai, car il y a une différence très grande entre le sang circulant dans les vaisseaux et celui qui est sorti du corps. Pour la faire d'une façon plus délicate, mettons la bactériémie sous la peau ou dans la chambre antérieure de l'œil de notre lapin vacciné; elle y croît très bien, donne un grand nombre de bâtonnets dans les premières heures, mais elle ne se généralise pas. Le corps des animaux qui ont l'immunité n'est donc pas un milieu impropre au développement du virus.

Pourquoi celui-ci ne s'y répand-il pas? On en a cherché la raison dans l'action nuisible que certaines humeurs de l'économie exerceraient sur les microbes, action qui a été désignée sous le nom de bactéricide. Les bacilles du charbon, par exemple, périssent en grand nombre si on les met en contact avec du sang défibriné de lapin. Il est aisé de le constater: introduisons des bactéries dans du sang, puis prélevons aussitôt un volume connu du mélange et ensemblons-le dans de la gélatine que nous étalons sur des plaques. Le nombre des colonies nous fait connaître la quantité de bacilles au début de l'expérience. Une seconde numération nous montre que déjà après une demi-heure de contact avec le sang, beaucoup de bactéries ont péri, car les colonies sont bien moins nombreuses qu'au commencement. Ces expériences, faites d'abord par M. Fodor, ont été vérifiées et étendues par MM. Nuttal et Nissen. M. Buehner, pénétrant plus avant dans cette étude, a fait voir que dans le sang, c'est surtout le sérum qui possède la propriété de nuire aux bactéries. De ce que le sang du lapin est bactéricide pour le bacillus anthracis, il n'y a rien à conclure sur le mécanisme de l'immunité, puisque le lapin n'est pas réfractaire au charbon. Mais bientôt cette propriété bactéricide a été étudiée chez les animaux naturellement réfractaires et chez les animaux immunisés; on a avancé que chez eux elle était beaucoup plus marquée que chez les animaux réceptifs. C'est M. Charrin qui a porté le premier la question sur ce terrain en cultivant par comparaison le bacille pyocyanique, dans le sérum de lapins vaccinés et dans le sérum de lapins neufs. La culture se fait bien dans les deux cas, mais elle subit dans le sérum de l'animal réfractaire des modifications spéciales.

Le travail le plus complet sur la propriété bactéricide des humeurs est celui de MM. Behring et Nissen, qui ont examiné l'action du sérum d'un grand nombre d'animaux sur les microbes pathogènes. C'est donc à eux que nous emprunterons nos exemples. Le chien, réfractaire au charbon, fournit un sérum qui n'est pas nuisible pour les bactéries, ainsi que MM. Charrin et Roger l'avaient déjà signalé, tandis que le lapin, qui prend le charbon, donne, surtout s'il est vieux, un sérum bactéricide pour le même microbe. De même le sérum d'un mouton vacciné contre le charbon n'est pas plus bactéricide que le sérum d'un mouton neuf. M. Lubarsch a retiré du corps d'un lapin un sérum très meurtrier pour la bactérie virulente, et cependant ce lapin a succombé quand on l'a inoculé avec le deuxième vaccin, après qu'il était déjà rétabli de la saignée qu'on lui avait pratiquée. Nous pourrions multiplier ces exemples qui prouvent qu'il n'y a que rarement concordance entre la propriété bactéricide et l'immunité soit naturelle, soit artificielle.

Mais les faits les plus intéressants à examiner sont ceux où l'accord existe entre l'état réfractaire et le pouvoir microbicide. MM. Behring et Nissen ont trouvé que le sérum du cobaye, sensible à l'action du vibrio Metchnikovi, n'est pas bactéricide pour ce microbe, tandis que le sérum du même animal vacciné l'est au plus haut degré. Rien n'est plus saisissant que la démonstration qu'ils donnent de ce fait, le sérum de l'animal immunisé tue les vibrions en quelques heures. Cet effet, si marqué *in vitro*, devrait être plus rapide encore dans le corps de l'animal réfractaire. Il n'en est rien et M. Pfeiffer a vu que le vibrio Metchnikovi, introduit sous la peau d'un animal vacciné, était encore vivant après 90 heures. M. Metchnikoff a maintes fois constaté que le vibron cultivait dans le tissu cellulaire de cobayes absolument réfractaires à la septicémie vibrionienne. Même après 48 heures, il a vu que les vibrions étaient vivants dans l'exsudat et qu'ils se développaient dans celui-ci, lorsqu'il était retiré du corps. Voici donc que cette action bactéricide, si active en dehors du corps, ne s'exerce que bien mal dans l'organisme lui-même.

M. Behring recommande à tous ceux qui veulent se convaincre du pouvoir bactéricide des humeurs d'étudier, à ce point de vue, le sérum du rat. La bactériémie que l'on mêle à ce sérum meurt très vite, les spores de charbon qu'on y ajoute n'y donnent le plus souvent aucune culture; de sorte que le sérum du rat agit sur le bacille du charbon comme un véritable antiseptique. Cette action énergique ne s'exerce pas seulement *in vitro*, mais aussi dans l'organisme. Des souris inoculées avec des spores mises en suspension dans du sérum de rat prennent le charbon avec un long retard ou ne le prennent pas, ainsi que M. Hankin l'a montré. Cependant les souris sont, parmi les animaux, les plus sensibles au charbon et il faut que l'action thérapeutique du sérum de rat soit bien puissante pour les préserver. Le rat est, dit-on, un animal réfractaire au charbon, et la propriété bactéricide exceptionnelle de ses humeurs est d'accord avec l'immunité dont il jouit. Et d'abord, Messieurs, le rat blanc qui sert dans ces expériences est-il aussi résistant au charbon qu'on le répète souvent? MM. Loeffler, Straus, Lubarsch, Metchnikoff et bien d'autres expérimentateurs ont fait périr les rats du charbon. Ils résistent évidemment mieux que nos autres rongeurs de laboratoire, mais ils succombent souvent malgré leur sérum microbicide. D'ailleurs, le pouvoir bactéricide de leur sérum ne correspond pas nécessairement au degré de leur résistance au charbon, les jeunes rats qui ont une réceptivité plus grande, donnent cependant un sérum qui agit sur les bactériémies comme celui des rats adultes. Mais ce qui prouve bien que les choses ne se passent pas dans l'être vivant comme en dehors de l'organisme, c'est que les spores ou les bactériémies filamentaires croissent dès les premières heures, quand on les introduit sous la peau d'un rat, en donnant un œdème volumineux qui peut disparaître dans la suite. Si on porte la bactériémie dans le corps du rat, au point même où le pouvoir bactéricide doit s'exercer le plus d'intensité, c'est-à-dire dans le sang, l'animal meurt du charbon après un temps plus ou moins long. Nous avons vu, M. Metchnikoff et moi, des rats dont le sang empêchait l'évolution de la bactériémie chez des souris périr du charbon après l'infection par la jugulaire. Bien plus, des bactériémies mélangées

au sérum d'un rat sont injectées sous la peau d'un autre rat; ce dernier n'éprouve aucun mal, n'a pas d'œdème, tandis que le rat fournisseur du sérum thérapeutique a succombé au charbon. Le sang, dans ce cas, manifestait au dehors du corps des propriétés microbicides qu'il n'avait pas dans l'organisme. Nos rats avaient un sérum capable de préserver les souris du charbon, mais impuissant à les sauver eux-mêmes.

Pour MM. Ogata et Iasuhara, le sang de la grenouille et du chien sont si actifs pour détruire la bactériémie charbonneuse, qu'une seule goutte, ou même une demi-goutte, préserve une souris du charbon si on la lui injecte sous la peau, même cinq heures après l'infection. Malgré plusieurs essais, nous n'avons pas pu reproduire ces surprenants effets thérapeutiques.

Cependant, Messieurs, il est certain que l'on peut retirer du corps des substances protéiques nuisibles aux bactéries. M. Hankin les a préparées et a montré leur action. Leur connaissance conduira peut-être à d'importantes conséquences thérapeutiques, mais elle ne nous explique pas l'immunité. On trouve ces protéides défensives dans la rate du lapin sensible au charbon et dans celle du rat plus résistant. Il semble même qu'elles n'ont toute leur activité que lorsqu'elles sont isolées des organes au moyen des réactifs. Prenons la rate d'un rat qui vient d'être sacrifié, au lieu de la traiter par une solution de sulfate de soude et de précipiter par l'alcool, broyons la rapidement avec de l'eau pure et ajoutons des bactéries au liquide ainsi obtenu. Une souris qui reçoit ce mélange périt du charbon comme la souris témoin.

Le problème de l'immunité n'est pas résolu par le pouvoir bactéricide des humeurs, peut-être sera-t-il expliqué par une autre propriété que l'on a nommée atténuatrice? Les virus introduits dans le corps des animaux réfractaires y perdraient leur virulence et deviendraient inoffensifs. Cette atténuation se produirait et dans le cas de l'immunité naturelle et dans celui de l'immunité acquise. C'est ainsi que l'on a avancé que les bacilles du charbon perdent leur virulence dans le corps de la grenouille qui est insensible à cette maladie; mais M. Lubarsch a pu retirer des bactéries tout à fait actives du corps d'une grenouille trente-trois jours après les y avoir introduites. Dans ces expériences, on reprend dans les tissus de l'animal réfractaire les microbes que l'on y a insérés, beaucoup peuvent avoir péri et on est exposé à faire l'inoculation d'épreuve avec un petit nombre de microbes plus ou moins modifiés. Si l'animal qui les reçoit ne succombe pas, il ne faut pas en conclure qu'il y a eu atténuation. Pour éviter cette cause d'erreur, il faut faire d'abord une culture; si le virus a été réellement atténué dans le corps, sa culture sera atténuée. En opérant ainsi, M. Lubarsch n'a vu qu'exceptionnellement la bactérie atténuée par un séjour prolongé dans l'organisme de la grenouille et du chien. Les expériences si connues du laboratoire de M. Pasteur, sur le retour à la virulence, ont appris que pour rendre leur activité aux microbes atténués, il n'y a qu'à les faire passer par des espèces animales de plus en plus résistantes. Ainsi, le charbon qui a passé par le bœuf est plus virulent que celui qui a passé par le cobaye

et celui qui a passé par le chien, animal réfractaire, est plus meurtrier encore. Nous avons préparé autrefois, M. Chamberland et moi, un charbon d'une virulence excessive pour les lapins et les moutons en cultivant la bactériémie sur une série de jeunes poulets de plus en plus âgés. M. Metchnikoff a augmenté l'activité de la même bactériémie en la faisant passer par des pigeons. Ces oiseaux sont cependant assez résistants au charbon. Une observation intéressante faite par M. Pasteur nous montre que le microbe du choléra des poules, après un long séjour dans un abreuvoir, formé chez un cobaye réfractaire, est encore mortel pour les poules adultes.

Dans le corps des animaux qui ont acquis l'immunité, les virus ne s'affaiblissent pas davantage, il y a de nombreux exemples qui prouveraient plutôt qu'ils s'y renforcent. M. Metchnikoff a inoculé le charbon dans la chambre antérieure de l'œil et sous la peau de lapins réfractaires, la bactériémie y est restée virulente, car portée directement sous la peau d'autres lapins de cobaye, elle les a fait périr rapidement. L'organisme réfractaire finit par tuer les virus, mais il n'exerce point sur eux cette influence atténuatrice par laquelle on a voulu expliquer l'immunité.*

Messieurs, une des découvertes les plus intéressantes qui aient été faites dans ces derniers temps, et qui est présente à tous vos esprits, est celle de MM. Behring et Kitasato. Ils ont trouvé que le sang des lapins vaccinés contre le tétanos avait la propriété de neutraliser le poison tétanique. Ce sang, ou le sérum qu'on en retire, est capable non seulement de détruire de grandes quantités de toxine tétanique in vitro, mais aussi de donner aux souris l'immunité contre la maladie. Voici, Messieurs, un fait que tout le monde peut aisément vérifier et qui est assurément inattendu. L'immunité des lapins vaccinés contre le tétanos, serait due à la présence dans le corps de cette substance toxinoïde, véritable contrepoison d'une admirable efficacité. Une substance toxinoïde analogue se trouverait aussi, d'après M. Behring, chez les animaux réfractaires à la diphtérie. Existe-t-il de semblables contrepoisons pour les autres maladies infectieuses et pouvons-nous fonder sur eux une explication satisfaisante de l'immunité? Remarquons d'abord, que le tétanos comme la diphtérie sont deux maladies très spéciales, d'un type bien différent des infections ordinaires; les microbes qui les causent ne se répandent pas dans le corps, ils restent aux points où ils ont été introduits et n'agissent que par leurs toxines qui diffusent dans l'organisme. Il y a une différence très grande entre ces maladies, toxiques par excellence, et celles où la mort ne survient

* Une expérience moins probante sans doute au point de vue qui nous occupe, mais assurément très originale, a été faite par M. Nocard. Les chèvres laitières succombent facilement au charbon, si on leur injecte de la bactériémie virulente dans la mamelle par le conduit du trayon, sans produire de blessures. La même inoculation est inoffensive chez une chèvre vaccinée, mais la bactériémie introduite dans la glande y reste vivante pendant un temps encore indéfini. Le lait de chaque traite est charbonneux, inoculé à des moutons il leur donne un charbon mortel. Pendant cette longue série de générations dans une humeur d'un animal immunisé, le bacillus anthracis n'a pas été affaibli.

que lorsque le parasite s'est multiplié d'une façon prodigieuse dans le sang et dans les organes. Une explication de l'immunité, qui convient pour le tétanos et la diphtérie, ne doit pas être étendue sans examen à toutes les maladies infectieuses. D'ailleurs, les expériences de M. Vaillard, que j'ai eu la bonne fortune de suivre de près, ont montré que l'immunité pour le tétanos pouvait exister sans qu'il y ait pouvoir toxinié du sang et des humeurs. Les poules sont absolument réfractaires au tétanos, le microbe et sa toxine sont sans effet sur elles, cependant le sang des poules n'est pas toxinié. Il n'acquiert cette qualité que si l'on a injecté à la poule du poison tétanique, et elle est alors d'autant plus marquée que l'on a donné davantage de toxine. La substance qui neutralise le poison tétanique n'existe donc pas naturellement chez la poule réfractaire, elle provient de la toxine tétanique introduite dans son corps. Même chez les lapins vaccinés contre le tétanos, le pouvoir toxinié tient à la manière dont l'immunité leur est donnée, il existe quand l'état réfractaire a été produit par l'injection de liquide toxique chauffé à 60°, ou traité par le trichlorure d'iode, ou bien encore par l'iode seul; mais on ne le constate pas si l'immunité a été conférée par l'inoculation, sous la peau de la queue, de spores tétanique privées de toxine, mais additionnée d'acide lactique.

Considérant maintenant d'autres maladies à toxines, la septicémie vibrionienne par exemple. M. Gamaléia nous a appris que les cobayes vaccinés contre cette affection, sont aussi sensibles au poison du vibrio Metchnikovi que les cobayes neufs. MM. Charrin et Gamaléia ont constaté la même chose pour la maladie pyocyannique. De même M. Selander, dans son étude sur le Hog-Cholera, fait périr les lapins réfractaires au microbe, avec des doses de poison égales à celles qui tuent les lapins ordinaires. Dans ces cas, il n'y a pas de propriété toxinié chez les animaux vaccinés.

Malgré le grand intérêt de ce pouvoir toxinié, il n'est pas assez général pour appuyer sur lui une théorie de l'immunité.

Jusqu'ici, Messieurs, les explications de l'immunité que nous avons examinées, s'appuient surtout sur des expériences faites en dehors de l'organisme vivant. Considérons maintenant ce qui se passe dans le corps même et cherchons, par comparaison, ce que deviennent les virus introduits dans les tissus d'un animal réceptif et dans ceux d'un animal qui a l'immunité. Inoculons sous la peau, à la même heure, la bactérie virulente à un lapin ordinaire et à un lapin vacciné. Retirons de temps en temps l'exsudat qui se forme au point de l'inoculation, pour le regarder au microscope. Chez le lapin sensible au charbon, déjà après quelques heures, les bacilles ont pullulé et un œdème s'est formé; le liquide qui le constitue est transparent, il contient des bacilles et à côté de ceux-ci, des leucocytes. Peu à peu l'œdème augmente, les ganglions voisins se tuméfient, les bacilles passent dans le sang; alors, la mort est proche. Chez le lapin vacciné les bactéries se développent aussi dans les premiers moments, le liquide exsudé, clair d'abord, se trouble ensuite; il renferme des cellules migratrices qui deviennent de plus en plus nombreuses, tandis que les bacilles libres diminuent.

Bientôt on ne trouve presque plus de bâtonnets, la plus grande partie est contenue dans les leucocytes. Quelques-uns de ceux-ci en sont comme remplis, et dans leur intérieur on voit les bactériidies se modifier. Pendant que ces phénomènes se passent au point d'inoculation, le lapin ne manifeste aucun malaise, et il ne prend point le charbon. Si nous répétons les mêmes observations, non plus sur un lapin vacciné, mais sur un chien, animal naturellement réfractaire, nous assisterons au même spectacle. Que l'immunité soit acquise ou qu'elle soit naturelle, nous constatons le même afflux de leucocytes, le même englobement des bacilles.

M. Metchnikoff, qui a découvert tous ces faits, a donné aux cellules qui dévorent les microbes le nom expressif de phagocytes. La propriété essentielle des phagocytes, c'est d'avoir des mouvements amiboïdes qui leur permettent d'introduire les corpuscules étrangers dans leur intérieur. Les diverses variétés de globules blancs, les cellules endothéliales sont des phagocytes. Ces cellules ont une origine commune, le mésoderme, elles ont aussi une propriété commune, qui est de pouvoir digérer les corps qu'elles ont ingéré. De toutes les cellules des animaux supérieurs, elles sont les seules qui manifestent encore la digestion intra-cellulaire. En effet, si nous suivons le sort des bactériidies dans l'intérieur des phagocytes, nous voyons qu'elles y subissent une série d'altérations spéciales, bien différentes de celles qu'elles éprouvent quand elles périssent dans les cultures. C'est d'abord un gonflement, puis un effacement des contours, suivis d'une digestion véritable.

Ces faits, Messieurs, ne sont pas particuliers au charbon, ils se produisent de même avec tous les microbes pathogènes, soit que nous inoculions les microbes virulents à des animaux résistants, soit que nous injectons des microbes atténués à des animaux sensibles. Plus l'animal sera réfractaire, plus les microbes seront rapidement englobés par les leucocytes. Mais si au contraire l'animal ne résiste pas, si l'infection est rapide, les microbes restent libres, il n'y a pas de phagocytose.

Il semble donc que les phagocytes soient chargés de la défense de l'organisme et qu'ils engagent une véritable lutte contre les parasites.

Mais, dira-t-on, il y a des maladies où les microbes se trouvent surtout dans les cellules et qui sont cependant mortelles. Qui ne sait que dans la septicémie des souris et le rouget des porcs, les bacilles sont en grand nombre dans les leucocytes? Dans la tuberculose, dans la lèpre, les cellules sont le siège habituel des bacilles, et ces affections sont des plus graves, malgré la phagocytose intense qu'on y observe. Cela prouve, Messieurs, que les phagocytes, comme tous les moyens de défense, sont parfois impuissants. Ils ont fait de leur mieux en englobant les microbes, mais ceux-ci se sont adaptés au milieu intérieur des cellules et ils ont triomphé. Il ne suffit pas, en effet, que les microbes soient absorbés pour que l'organisme soit sauvé, il faut qu'ils soient digérés. Même dans ces cas où la lutte ne tourne pas à l'avantage de l'organisme, ce sont encore les phagocytes qui l'ont entreprise. On voit souvent dans la tuberculose et la lèpre des bacilles qui ont

subi, dans l'intérieur des cellules, des altérations qui attestent qu'il y a eu résistance. La théorie des phagocytes dit bien qu'il y a combat entre les microbes et les cellules, mais elle ne prétend pas que celles-ci doivent toujours l'emporter.

La phagocytose s'exerce chez les animaux réfractaires et elle ne se fait pas, ou se fait incomplètement chez les animaux réceptifs. Je crois que ce fait n'est plus contesté par personne. Mais, quelle interprétation faut-il en tirer ? L'immunité est-elle la conséquence de cette propriété des cellules d'englober les virus, ou cette absorption des virus par les cellules n'est-elle possible que parce que l'immunité existe déjà ? Nous savons, en effet, que les leucocytes s'incorporent volontiers les corps inertes qu'ils rencontrent, les débris d'organes comme la poudre de carmin ou celle de charbon. Si, dans l'organisme réfractaire, ils englobent les microbes, c'est peut-être parce que ceux-ci sont dans des conditions défavorables et restent quasi inertes dans ce milieu qui ne leur convient pas ; dans l'organisme réceptif, au contraire, où les microbes trouvent de bonnes conditions d'existence, ils ne sont pas englobés.

J'ai moi-même autrefois exprimé l'opinion qu'il en est ainsi, mais des faits nombreux ont été produits qui démontrent que les microbes saisis par les cellules ne sont point dégénérés, mais en pleine vitalité. On observe, par exemple chez les grenouilles, une septicémie causée par des bacilles très mobiles, qui sont souvent incorporés dans les leucocytes ; on a pu voir ces bacilles s'agiter encore dans l'intérieur du protoplasma et marquer par leurs mouvements qu'ils avaient été absorbés vivants. Voici encore une autre preuve : l'exsudat retiré du corps d'un pigeon ou d'un lapin vaccinés, inoculés avec la bactériémie virulente, montre au microscope de nombreux leucocytes emprisonnant des bacilles, ceux-ci croissent sous l'œil de l'observateur, dans l'intérieur même des phagocytes qui ont péri ; en s'allongeant, ils entraînent le protoplasma, déforment la cellule et finissent par faire saillie au dehors.

Les phagocytes absorbent les microbes non seulement vivants, mais encore virulents. M. Metchnikoff a réussi à obtenir une culture du charbon, en ensemençant dans du bouillon un leucocyte isolé qui contenait une bactériémie charbonneuse, et cette culture était virulente. D'ailleurs, n'avons-nous pas déjà vu que les microbes retirés des animaux réfractaires avaient parfois une virulence accrue comme s'ils s'étaient renforcés dans la lutte avec les cellules.

Les phagocytes ne jouent donc pas simplement le rôle de balayeurs de choses inertes. Ce n'est pas quand les microbes sont morts qu'ils surviennent, mais dès le début de l'entrée de ceux-ci dans l'organisme, alors qu'ils ont toute leur activité.

Une autre démonstration de l'importance de l'action phagocytaire c'est que, même chez l'animal réfractaire, les microbes pullulent s'ils sont préservés de l'atteinte des leucocytes. Ainsi, dans la chambre antérieure d'un lapin vacciné, où il n'y a pas de cellules, les bactéries poussent très bien et leur développement n'est arrêté que lorsque les leucocytes émigrés en quantité les ont incorporées. Un virus charbonneux très faible, comme le premier vaccin, croît facilement dans l'humour aqueux d'un lapin vacciné, tant que les cellules migratrices

n'interviennent pas. Introduisons, maintenant, des spores charbonneuses sous la peau du même lapin vacciné, après les avoir enfermées dans un petit sac de papier ou après les avoir déposées au centre d'un flocon de ouate. Les liquides exsudés pénètrent facilement jusqu'aux spores, mais les phagocytes sont arrêtés, pendant quelque temps, par la paroi de papier ou les brins du coton. Les spores germent et donnent des cultures dans leur enveloppe protectrice, en vivant aux dépens des humeurs du lapin réfractaire, tandis que toutes les spores et tous les bacilles qui se trouvent en dehors de la protection du papier et de la ouate sont englobés et arrêtés dans leur développement.

La phagocytose est donc, Messieurs, un phénomène à la fois très général et très efficace pour la défense de l'organisme ; quand il manque, celui-ci succombe. Mais quelle force mystérieuse attire les cellules vers les microbes ? Pourquoi les leucocytes qui s'emparent si facilement des microbes chez l'animal vacciné, sont-ils incapables de les saisir chez l'animal réceptif ? Lorsqu'en 1883, M. Metchnikoff a proposé la théorie phagocytaire, il admettait que les cellules allaient vers les microbes en vertu de la sensibilité tactile qu'ils manifestent vis-à-vis de tous les corps étrangers introduits dans les tissus. Il pensait aussi, que la propriété qu'ils ont de saisir les virus chez les animaux immunisés, tient à une accoutumance qui résulte de leur première lutte avec les virus atténués qui ont servi à la vaccination. Aujourd'hui, Messieurs, ces mouvements et ces préférences des leucocytes reçoivent une explication plus facile. On a découvert que les cellules migratrices ont une sensibilité chimique spéciale, une chimiotaxie analogue à celle des zoospermes, des fougères, et des myxomycètes. Elles sont attirées par certains corps et repoussées par d'autres. MM. Massart et Bordet ont montré que les produits microbiens exercent une chimiotaxie très marquée sur les phagocytes. Les cultures de microbes attirent les leucocytes et cette propriété attirante appartient aux substances que les microbes élaborent dans les cultures. Ces mêmes produits solubles qui sont capables de donner l'immunité, ces poisons microbiens dont nous avons parlé, ont sur les phagocytes, les uns une action attirante, les autres une action répulsive.

Lorsqu'un virus est introduit dans le corps, il pullule au lieu d'inoculation et y forme les substances qui attirent les leucocytes ; mais plus le virus est actif, plus les poisons qu'il prépare sont énergiques, et il arrive que les cellules qui ont pénétré dans ce foyer toxique sont paralysées dans leur action et sont incapables d'englober les microbes qui se répandent sans obstacle. Il y a même des virus très meurtriers, comme celui du choléra des poules, dont la toxine exerce sur les leucocytes une chimiotaxie négative, et les écarte du foyer de culture, aussi n'y a-t-il jamais de phagocytose dans cette affection.

Il n'en est pas de même chez l'animal vacciné, l'immunité lui a été conférée, soit par l'inoculation d'un virus atténué, soit par l'injection de doses ménagées de produits microbiens. Dans les deux cas, il a été soumis à l'action des substances solubles que fabriquent les microbes, il a donc pour eux une certaine accoutumance. Aussi, quand nous lui donnerons le virus fort, ses phagocytes attirés au point d'inoculation

et déjà accoutumés aux produits du microbe engloberont celui-ci avant qu'il ait eu le temps de préparer des doses notables de toxine. C'est donc au début de l'infection que se passe la lutte, si les leucocytes ne peuvent pas intervenir dans les premiers moments, il sera trop tard ensuite, les microbes auront élaboré assez de poison pour entraver l'action des phagocytes. C'est pourquoi toute cause qui éloigne les leucocytes du lieu d'inoculation facilite l'infection. L'acide lactique, qui exerce sur les cellules une chimiotaxie négative, permet au virus du charbon symptomatique auquel on l'ajoute, de se développer dans le corps du lapin qui, dans les conditions ordinaires, est réfractaire à la maladie. L'étude des propriétés chimiotactiques des divers corps vis-à-vis des phagocytes nous conduira certainement à des effets thérapeutiques inattendus. La curieuse influence du sérum des rats qui, injecté à des souris en même temps que des spores charbonneuses, arrête le développement de la maladie, peut être expliquée par la chimiotaxie qu'exerce le sérum. Il agit d'abord en retardant la germination des spores, ensuite en attirant de nombreux leucocytes qui emprisonnent celles-ci et les empêchent de croître.

L'action des substances microbiennes s'exerce-t-elle directement sur les leucocytes pour provoquer leur sortie active des vaisseaux? On l'admet généralement, mais M. Bouchard pense que la diapédèse se fait par l'intervention du système nerveux. Chez les animaux réceptifs, les produits microbiens agissent sur les centres nerveux qui resserrent les vaisseaux et empêchent la sortie des leucocytes. S'il en est ainsi, la dilatation vasculaire ne doit pas se produire autour du point d'inoculation, nous voyons cependant que la plupart du temps elle est très marquée.

D'après M. Buchner les produits qui attirent les phagocytes sont les protéines contenues dans le corps même des microbes; il faut que ceux-ci soient morts pour qu'elles passent dans le milieu environnant et lui communiquent le pouvoir chimiotactique. Les autres substances contenues dans les cultures n'ont pas de propriété attirante; M. Buchner s'en est assuré pour les sels ammoniacaux, la triméthylamine, l'urée, le scatol, la tyrosine; mais personne ne prétend que se soient ces corps qui appellent les leucocytes. Ce sont les toxines spécifiques qui ont cette faculté et nous n'avons aucun procédé rigoureux pour les séparer des protéines microbiennes. Pourquoi une diastase toxique, par exemple, ne resterait-elle pas adhérente aux protéines que M. Buchner a préparées?

De tout ce qui précède, nous concluons donc, Messieurs, que l'immunité acquise est l'accoutumance des phagocytes aux produits microbiens. Il n'est pas nécessaire que cette accoutumance s'étende aux autres cellules de l'organisme. Aussi, voyons-nous des animaux vaccinés, parfaitement réfractaires au virus vivant, être tués par la même dose de toxine qui fait périr un animal neuf. Il y a alors empoisonnement, soit des cellules nerveuses ou de toutes autres cellules de leur corps qui n'entrent point en combat avec les microbes.

La théorie des phagocytes peut-elle aussi nous permettre de comprendre l'immunité naturelle? Celle-ci nous est moins connue, elle

dépend souvent de conditions physiques et chimiques simples à constater, telles sont, par exemple, la température du corps, la réaction alcaline ou acide de certains milieux et, chez les végétaux, l'épaisseur plus ou moins grande des membranes cellulaires. Dans bien des cas, cependant, cette immunité trouvera son explication dans la résistance naturelle des leucocytes aux poisons des microbes. De même que la morphine ou la strychnine n'agissent pas sur les cellules nerveuses de certaines espèces animales, de même le poison d'une maladie infectieuse peut être sans action sur les phagocytes d'un animal qui est naturellement réfractaire. Les cellules sont alors toujours aptes à englober rapidement le virus qui pénètre dans le corps.

La théorie de l'immunité, proposée par M. Metchnikoff, ne nie pas qu'en dehors de la phagocytose il puisse y avoir d'autres moyens de protection de l'organisme, mais elle affirme que l'action phagocytaire est de tous ces moyens, le plus répandu et le plus efficace. Elle nous paraît rendre compte de tous les faits et être éminemment suggestive. C'est ainsi que la connaissance des poisons microbiens et la vaccination chimique, jointes à la découverte de la chimiotaxie, ont éclairci ce qu'elle pouvait avoir d'obscur. Bien loin d'être ébranlée par les théories qu'on lui a opposées, elle en a tiré profit. N'est-ce pas là, Messieurs, une garantie de sa solidité?



Ueber Immunität, deren natürliches Vorkommen und künstliche Erzeugung.

VON

Dr. HANS BUCHNER, k. b. Stabsarzt und Privatdocent der Hygiene
an der Universität München.



Der Begriff Immunität bezeichnet im Wesentlichen etwas Negatives—Unmöglichkeit einer Vermehrung eingedrungener specifischer Infectionserreger (absolute Immunität)—oder wenigstens Beschränkung ihrer Vermehrung, so dass es nicht zur vollen Entwicklung des specifischen Krankheitsbildes kommt (relative Immunität). Darin, dass die Immunität in der Verhinderung eines positiven Vorganges, nämlich des Infectionsprocesses, beruht, liegt bereits die Möglichkeit angedeutet, dass dieser Effect in verschiedenen Fällen durch verschiedenartige Ursachen zu Stande kommen könne.

A. NATÜRLICHE IMMUNITÄT.

In der That kann man von vornherein nicht annehmen, dass in folgenden allgemeinsten Fällen:

- (a) natürliche Immunität der meisten Poikilothermen gegen die Infectionsprocesse der Warmblüter,

- (b) ebenso der Warmblüter gegen die saprophytischen, insbesondere die Fäulnisbakterien (obwohl letztere im toten Organismus vermehrungsfähig sind),
- (c) ebenso der meisten lebenden Pflanzen und Früchte gegen die Bakterien—

dass in allen diesen Fällen die Immunität durch die nämlichen Ursachen bedingt ist. Beispielsweise wird das Fleisch der meisten Früchte durch Anwesenheit freier Säuren gegen die Angriffe von Baeterien geschützt, während im thierischen Gewebe freie Säuren in dieser Beziehung keine Rolle spielen.

Ebensowenig wahrscheinlich ist eine Gleichheit resp. Einheitlichkeit der wirkenden Ursache Angesichts des Umstandes, dass ausser den allgemeinsten Organisationsbedingungen auch besondere Eigenschaften der einzelnen Thierspecies, -Varietäten und -Rassen auf die Immunität influiren. Ebenso ferner auch Alter und Ernährungsstand, was durch die Erfahrungen an Thieren, besonders aber am Menschen bewiesen oder wenigstens sehr wahrscheinlich gemacht wird—ohne dass es erforderlich scheint, auf diese Punkte hier näher einzugehen.

Das Gleiche gilt auch, wenn wir den Begriff Immunität erweitern und, ausser einer Immunität des Gesamtorganismus, in gewissen Fällen, in denen letztere mangelt, eine wenigstens relative Immunität einzelner Organe und Gewebe statuiren. In diesem Sinne verhält sich beispielsweise bei den Säugethieren das Muskelgewebe gegen die meisten Infectionen relativ immun (mit Ausnahme von Rausehbrand, malignem Oedem u. s. w.), ebenso die Haut (mit Ausnahme der exanthematischen Infectionen). Gegen den Antraxbacillus erscheinen beim Nager fast alle Gewebe, mit Ausnahme des Blutes, relativ immun, während umgekehrt das menschliche Blut ein relativ immunes Verhalten zeigt gegen Cholera vibrio, Typhus- und Tuberkelbacillus, überhaupt gegen die meisten Infectionserreger.

Besonders aus den letzteren Thatsachen geht klar hervor: die Immunität ist in vielen Fällen etwas specifisch bedingtes, abhängig von specifischen physiologischen Eigenschaften einerseits der Krankheitserreger, anderseits des thierischen Organismus respective seiner einzelnen Organe und Gewebe. Noch deutlicher wird dies, wenn ausser der bisher besprochenen natürlichen Immunität auch die erworbene oder künstlich erzeugte Immunität berücksichtigt wird. Hier scheint nach allen bisherigen Erfahrungen die Specifität eine ganz ausgesprochene, weshalb von vorneherein auf qualitativ verschiedene Ursachen in den einzelnen Fällen geschlossen werden muss.

B. ERWERBUNG VON IMMUNITÄT.

Während die natürliche Immunität einen angeborenen Zustand repräsentirt, über dessen Entstehung wir Nichts wissen, sind die Bedingungen der Erzeugung erworbener Immunität dem Experimente zugänglich. Wir können also die Frage aufstellen:

I. *Durch welche Stoffe kann Immunisirung bewirkt werden?*

Die bisher aufgefundenen Methoden zu künstlicher Immunisirung sind im Wesentlichen folgende:

(a) Präventiv-Inoculation der specifischen, aber künstlich abgeschwächten Krankheitserreger (Pasteur bei Hühnercholera und Milzbrand; Pasteur und Thuillier bei Schweinerothlauf; Arloing, Cornevin und Thomas bei Rauschbrand).

(b) Präventiv-Inoculation der specifischen, aber völlig abgeschwächten Krankheitserreger (Hüppe bei Hühnercholera; Chauveau bei Milzbrand).

(c) Präventiv-Inoculation eines an sich unschädlichen, aber artverwandten Saprophyten (Hüppe und Wood bei Milzbrand).

(d) Präventiv-Injection von sterilisirten und filtrirten Culturen der specifischen Krankheitserreger (Salmon und Smith bei Hog-Cholera; Foà und Bonome bei der Proteus-Krankheit; Charrin bei der Pyocyaneuskrankheit; Roux und Chamberland bei malignem Oedem; Roux bei Rauschbrand; Gamaleïa bei Cholera und Gastroenteritis choleric*; C. Fränkel bei Diphtherie).

(e) Wooldridge erhielt aus Anthraxculturen in Extracten von Kalbsthymus und Hoden, später aus den sterilen Extracten selbst schützende Körper gegen Anthrax, Hankin ebenso aus Anthraxculturen in Fibrinlösung, kürzlich aus Rattenmilz; von Fodor erzielte durch Alkalizufuhr relative Immunität gegen Anthrax, Behring und Kitasato durch Vorbehandlung mit Jodtrichlorid Immunität gegen Tetanus und Behring durch Vorbehandlung mit Wasserstoffsuperoxyd gegen Diphtherie.

Zunächst ist klar, dass die ad (d) erwähnten Präventiv-Injectionen von sterilisirten Culturen einen wichtigen theoretischen Fortschritt darstellen. Immunisirung kann demnach nicht nur durch die innerhalb des lebenden Körpers, sondern auch durch ausserhalb desselben gebildete Bacterienproducte bewirkt werden.

Man denkt hierbei zuerst an die specifischen Toxine und Toxalbumine und an eine stattfindende Angewöhnung des Organismus. Hiergegen sprechen jedoch die ad (b) und (c) angeführten Thatfachen, da völlig abgeschwächte Culturen und Saprophyten überhaupt keine specifischen Toxine bilden (Roux und Yersin, Brieger, C. Fränkel, Gamaleïa); unvereinbar ferner sind hiemit die Resultate bei Diphtherie, wonach gerade das Diphtherie-Toxalbumin keine Diphtherie-Immunität verleiht (Roux und Yersin, C. Fränkel), während die giftfreie Culturflüssigkeit diesen Zweck erreicht (C. Fränkel). Ferner lässt sich bei *Bac. pyocyaneus* und *Vib. Metschnikovi* durch sterilisirte Culturen zwar Immunität gegen den lebenden Infectionserreger, aber keine Toleranz gegen grössere Dosen des specifischen Giftes erreichen, was der Angewöhnungshypothese ebenfalls widerspricht (Roger und Charrin, Gamaleïa).

* Bei Gamaleïa's Versuchen waren die sterilisirten Culturen nicht filtrirt.

Die Annahme einer entscheidenden Action der Toxine oder Toxalbumine bei der Immunisirung ist somit nicht haltbar. Da ferner die übrigen weniger giftigen oder ungiftigen Zersetzungsstoffe der Bakterien (Amidosäuren, Aminbasen, Fettsäuren, Benzolderivate, Indolderivate u. s. w.) kaum geeignet scheinen, um als Träger einer specifischen immunisirenden Wirkung in Anspruch genommen zu werden, so scheint das Problem vorläufig kaum lösbar.

Als weitere Möglichkeit—obwohl darüber bis jetzt keine experimentellen Ergebnisse vorliegen—sei indess erwähnt, dass eine dritte Kategorie von bakteriellen Producten, und zwar specifischer Natur, bei der Immunisirung betheiligt sein könnte. Es sind dies die eiweissartigen Bestandtheile des plasmatischen Inhalts der Bakterienzelle, auf deren Bedeutung ich im vorigen Jahre in wiederholten Mittheilungen aufmerksam gemacht habe.* Diese Körper sind zuerst 1880 von Nencki isolirt, in chemischer Hinsicht studirt und als Proteine bezeichnet worden. Ihre Wirkungen im Organismus kannte man damals nicht, und hat dieselben seitdem nie berücksichtigt, weil immer angenommen wurde, dass die Bakterien nur durch Stoffwechsel- und Gährungsproducte ihre Wirksamkeit äussern. Aber es ist sicher, wenn die Bakterien sowohl in den Culturen als im Organismus zu Grunde gehen, dass dann ihre Inhaltsbestandtheile in die umgebende Flüssigkeit gelangen und damit zur Wirkung kommen. Und nicht nur beim wirklichen Absterben, sondern schon bei eintretendem Involutionprocess beginnt eine Auscheidung von Inhaltsbestandtheilen aus der Bakterienzelle, wie die abnehmende Färbbarkeit und das Auftreten von Vaenolen beweisen. Beides ist der Grund, weshalb auch filtrirte Culturflüssigkeiten, in denen ein Theil der Bakterien abgestorben oder in Involution gerathen war, solche Stoffe enthalten.

Die Wirkung dieser Bakterienproteine im Organismus (Näheres darüber s. sub C II) ist wesentlich entgegengesetzt zu jener der Toxine. Während letztere hauptsächlich die nervösen Apparate beeinflussen, theils erregend, theils lähmend, so bezieht sich die Wirkung der bisher untersuchten Proteine vornehmlich auf die parenchymatösen Gewebe und besteht in der Erregung entzündlicher Reaction im weitesten Sinne, einschliesslich der Leukoeytose. Die beim Menschen und bei Ziegen angestellten Versuche mit Protein des *Bacillus proteus* ergaben, dass diese Entzündung auch mit Fieber und allgemeinem Krankheitsgefühl verbunden ist.

Die letztere Thatsache allein lässt sich bis jetzt für eine Beziehung der specifischen Bakterienproteine zur Immunisirung anführen, indem in einigen Fällen, namentlich Anthrax, die fieberhafte Reaction zur erfolgreichen Immunisirung erforderlich scheint (Gamaleia). Im Uebrigen muss die Frage der Beziehungen der Proteine zur Immunisirung noch offen bleiben. (Hüppe glaubt ebenfalls an die Existenz derartiger Beziehungen.)

Ebensowenig als über die Stoffe, die bei der Immunisirung in Betracht kommen, wissen wir

* Berliner klin. Wochenschrift 1890, No. 10, 30 und 47.

II. *Ueber die Art, in welcher diese Stoffe bei der Immunisirung im Körper wirken.*

In vielen Fällen, wenn die Immunisirung durch abgeschwächte specifische Krankheitserreger erfolgt, scheint der stattfindende Vorgang im Wesentlichen nur eine abgeschwächte Copie des specifischen Krankheitsprocesses zu sein. Aber selbst bei der bestbekannten Infection, beim Anthrax, ist die Frage, ob sich die *Vaccinbakterien* im Körper generell verbreiten (*Gamaleia*) oder nur an der Inoculationsstelle vermehren (Wyssokowicz, Chalakinoff, Bitter, O. Metschnikoff) noch kaum definitiv entschieden. Vielleicht wäre in verschiedenen Fällen beides möglich, da in letzter Linie doch nur die specifischen Stoffe der Bacterienzelle wirken, die durch Resorption in beiden Fällen in den Kreislauf gelangen können.

Bei gewissen Infectionen, gerade beim Anthrax, beim Schweine-*rothlauf* u. s. w. scheint eine fieberhafte Reaction zur erfolgreichen Immunisirung zu gehören, was, wie erwähnt, auf eine Mitbetheiligung der Proteine in diesen Fällen hinweist. In anderen Fällen von Immunisirung aber fehlt das Fieber, und namentlich bei der Immunisirung durch sterilisirte Culturen vermissen wir vielfach vollständig das specifische Krankheitsbild, überhaupt jede ausgesprochene Reaction.

Bei dieser Mannigfaltigkeit der Erscheinungen und bei dem Mangel positiver Kenntnisse lohnt es sich nicht, auf hypothetischem Wege hier weiter vorzudringen.

Die wichtigste Frage lautet endlich :

III. *Worin besteht die erworbene Immunität? Durch welche Mittel oder Stoffe vermag der immunisirte Körper die Vermehrung eingedrungener specifischer Infectionserreger zu verhindern?*

Auch in dieser Beziehung sind unsere positiven Kenntnisse gering ; sie scheinen nur deshalb grösser, weil die analogen Verhältnisse bei der natürlichen Immunität hier zur Beleuchtung mit herangezogen werden können. Ihrer Bedeutung gemäss soll diese Frage denn auch, in Verbindung mit den Bedingungen der natürlichen Immunität sub C eingehend besprochen werden.

Anhang zu B.

Heilung von Infectionsprocessen.

Die Heilung von Infectionsprocessen repräsentirt in gewissem Sinne einen speciellen Fall von Immunisirung ; denn ihr Zustandekommen setzt Bedingungen voraus, welche die Vermehrung eingedrungener specifischer Infectionserreger wenigstens für eine Zeitlang unmöglich machen. Da wir jedoch unter Immunität einen dauernden Zustand verstehen, so gehören eigentlich nur jene Fälle hieher, wo die eintretende Heilung unmittelbar auch dauernde Immunität in sich schliesst (*acute Exantheme, Abdominaltyphus* u. s. w.). Hier sind beide

Vorgänge anscheinend identisch, die Heilung besteht hier in der eintretenden Immunisirung, weshalb diese Fälle unter den bisherigen und folgenden Ausführungen über Immunität bereits als inbegriffen zu gelten haben.

In anderen Fällen dagegen (croupöse Pneumonie, Erysipel, Gonorrhoe u. s. w.) besitzt die zur Heilung führende Veränderung nur vorübergehenden Charakter. Trotzdem stehen auch diese Vorgänge mit der eigentlichen Immunisirung wahrseheinlich in nahem, innerem Zusammenhang und erscheinen von Wichtigkeit für eine vollständige Kenntniss des Immunitätsproblems. Wenn dieselben hier nur ganz kurz besprochen werden, so geschieht das nicht aus Unterschätzung ihrer theoretischen Bedeutung, sondern nur, um den Umfang dieses Berichtes nicht übermässig auszudehnen.

Ueber die Natur der Veränderungen, welche in diesen letzteren Fällen zur Heilung und vorübergehenden Immunisirung führen, wissen wir nur Folgendes :

(a) Jedenfalls ist ein selbständiges, aus inneren Ursachen erfolgendes Absterben baacterieller Infectionserreger—wodureh Manche den cyclischen Verlauf gewisser Infectionen (z. B. croupöse Pneumonie) erklären wollten—ganz auszuschliessen. Zwar bei thierischen Parasiten gibt es eine cyclische Entwicklung (z. B. Parasit der Malaria bei Febris quartana—Golgi), aber bei Bacterien existirt nichts Analoges, weshalb das Aufhören der Vermehrung immer durch äussere Veränderungen in den Zellen und Flüssigkeiten des Körpers bedingt sein muss.

(b) Diese zur Heilung führenden Veränderungen erscheinen in sehr vielen Fällen unter dem Bilde der entzündlichen Reaction, weshalb die letztere als ein zweckmässiges Abwehrmittel des Organismus gegen die Baacteriengefährdung aufzufassen ist (Buchner, Ribbert und Lähr, Bouchard, Hüppe).

(c) Die Entzündung selbst ist bedingt durch bestimmte ehemische Ursachen, nämlich durch gewisse bacterielle Producte. Es sind dies aber nicht die Stoffwechselproducte, sondern die aus dem Plasma der Bacterien stammenden, oben bereits erwähnten, eiweissartigen Bacterienproteine, die beim Untergang von Bacterienzellen zur Ausscheidung gelangen (Buchner mit Lange and Roemer). Näheres über die Bacterienproteine s. sub C II.

(d) Da die Proteine der verschiedensten Bacterienarten entzündliche Reaction bewirken, so kann auch durch eine Bacterienart von geringerer Gefährlichkeit im Körper mittels der entzündlichen Reaction gegen eine andere von grösserer Gefährlichkeit ein gewisser Schutz und damit Heilung erzielt werden (Emmerich, Pawlowsky, Bouchard, Charrin).

(e) Der gleiche Effect kann bewirkt werden durch sterilisirte Culturen, da die Bacterienproteine durch Siedehitze nicht zerstört werden (Woodhead und Wood, Buchner und Knüppel).

(f) Die eiweissartigen Bestandtheile der Bacterienzelle können auch in extrahirtem Zustand, ohne die Bacterienzelle selbst, zur Erzeugung entzündlicher Reaction und damit in bestimmten Fällen zu

Heilzwecken angewendet werden (Tuberculin von Koch bei Tuberculose).

(g) Durch welche Agentien die Entzündung schädigend auf die Baeterien einwirkt, wissen wir bis jetzt nicht. Es gibt hiefür folgende Möglichkeiten :

Wirkung von Phagocyten (s. Kritik der Phagocytenlehre sub C II);

Wirkung von Leukoeyten, aber nicht als Phagocyten, sondern indem dieselben um die Infectionserreger eine Art von Wall oder Mantel bilden und dieselben auf diese Weise vom gesunden Gewebe abgrenzen (Grawitz, Ribbert). Diese Vorstellung kann jedenfalls nur Geltung haben, wenn bewiesen wird, dass die Leukoeyten bacterienfeindliche lösliche Stoffe seeerniren, was wohl möglich erseheint (Hankin's Zellglobulin). Auf rein mechanischem oder sonstigem Wege könnte ein schützender und heilender Einfluss des Leukoeytenmantels nicht erklärt werden.

Endlich bleibt noch die Möglichkeit, dass nicht von den Leukoeyten, sondern von den fixen Gewebselementen, die bei der Entzündung in nutritive und formative Reizung gerathen (Virehow), bacterienfeindliche lösliche Stoffe produciert werden, durch deren Wirkung dann der Untergang der Bacterien und damit die Heilung bedingt sind.

Positiv beweisende Thatsachen sind bis jetzt für keine dieser Möglichkeiten vorhanden.

C. URSACHEN DER NATÜRLICHEN UND ERWORBENEN IMMUNITÄT.

Obwohl die natürliche und erworbene Immunität im Principle etwas Verschiedenes sind, indem letztere etwas zum normalen Zustand neu Hinzugekommenes, also im Grunde etwas Abnormales darstellt, so müssen doch die Ursachen beider gemeinsam behandelt werden. Bei dem Mangel an thatsächlichen Kenntnissen über jede einzelne der beiden Kategorien kann nur eine Vereinigung des gesammten Wissensmaterials einige Aussicht auf Erfolg gewähren.

Auf eine allgemeine Theorie der Immunität muss zur Zeit noch ganz verzichtet werden. Die nächste Aufgabe ist vielmehr, einzelne nachweisbare Ursachen des immunen Zustandes festzustellen und dieselben auf ihre Tragweite zu prüfen, indem man sich bewusst bleibt, dass diese Ursachen in verschiedenen Fällen von ungleichem Charakter sein können (conf. A).

Die bis jetzt aufgestellten Ideen über solche Ursachen von Immunität bewegen sich hauptsächlich in drei Richtungen. Die Unmöglichkeit der Vermehrung eingedrungener Infectionserreger könnte bedingt sein :

- I. durch Mangel an nährenden Stoffen ;
- II. oder durch Phagocytismus d. h. Aufnahme der Infectionserreger durch anöboide Zellen des Körpers mit nachfolgender Vernichtung durch chemische Wirkungen im Innern der Zelle ;

III. oder endlich durch die Anwesenheit und Wirksamkeit schützender d. h. bacterienfeindlicher Stoffe in den Geweben und Gewebssäften.

I. Mangel an nährenden Stoffen.

In gewissem Sinne erinnert diese Idee an die Erschöpfungstheorie von Pasteur, wonach durch die erste Vegetation der specifischen Krankheitserreger bestimmte Stoffe verbraucht, und damit eine neue Vegetation der gleichen Bacterienart unmöglich gemacht sein soll. Pasteur hatte diese Theorie ursprünglich zur Erklärung der Nicht-Wiederkehr des Milzbrandes aufgestellt, aber gerade beim Anthrax ist dieselbe experimentell widerlegt worden (Bitter, Lubarsch).

Wirklicher Mangel an nährenden Stoffen ist überhaupt im Körper, wo überall Albuminate reichlich zur Verfügung stehen, kaum anzunehmen, abgesehen von einigen speciellen Fällen. Dagegen wäre denkbar, dass die vorhandenen Albuminate in gewissen Fällen nicht assimilationsfähig sind, weil sie nicht durch die Bacterienmembran diosmiren. Die Baeterien würden dann, wenn in den betreffenden Gewebssäften überhaupt keine diosmirbaren C- und N-Verbindungen vorhanden sind, allmählich durch Nahrungsmangel zu Grunde gehen müssen, in ähnlicher Weise, wie dieselben im destillirten Wasser schliesslich durch Erschöpfung dem Untergange anheimfallen (Baumgarten, Ribbert).

Diese Möglichkeit ist denkbar, namentlich für solche Baeterien, die keine peptonisirenden Enzyme produciiren, wodurch die Albuminate in diffusionsfähige Körper übergehen; sie ist für gewisse Fälle von natürlicher Immunität nicht direct zu widerlegen,* aber sie ist nicht wahrscheinlich als allgemeinere Ursache von Immunität, weil die Immunität, namentlich die erworbene, stets durch ganz specifische Beziehungen charakterisirt ist, weshalb specifische Ursachen wirksam sein müssen,—

weil ferner bei Infection eines Gesamtorganismus die Infectionsmenge, bei Versuchen mit extravasculärem Serum die Aussaatmenge sehr häufig über den Erfolg entscheidet (s. später), was auf eine gewisse Labilität der gegenwirkenden Ursache hinweist,—

endlich weil das Absterben der pathogenen Bacterien im immunisirten Körper und ebenso die Vernichtung von Baeterien im extravasculären Blut oder Serum unter Umständen sehr rasch erfolgt (Emmerich und di Mattei, Nuttall, Nissen, Buchner u. s. w.) — während das Zugrundegehen aus Nahrungsmangel im destillirten Wasser viel längerer Zeit bedarf.†

* Die Wachsthumfähigkeit specifischer Baeterien im innern Körper nach dem Tode desselben, oder die Vermehrungsfähigkeit der Milzbrandbacillen im Körper des Froheses bei 37° ist kein Gegengrund, da man annehmen könnte, dass gerade durch das Absterben (Frösche sterben bei 37°), z. B. durch Zerfall von Zellen, diosmirbare Verbindungen gebildet werden.

† Dass unter Umständen pathogene Baeterien im immunisirten Thierkörper längere Zeit lebend bleiben können, widerlegt nicht die obigen Thatsachen.

II. *Phagocytismus.*

Die geistreiche Theorie Metschnikoff's, begründet auf eine Reihe von werthvollen Untersuchungen, bedeutet einen Wendepunkt in der Erforschung des Immunitätsproblems, indem die experimentellen Studien über die Ursachen der Immunität wesentlich von der Discussion über diese Theorie ihren Ausgang nahmen.

Metschnikoff hat zuerst bei einer parasitären Affection der Daphnien, dann beim Milzbrand immunisirter Kaninchen, beim Erysipel des Menschen, bei *Febris recurrens* u. s. w. bewiesen, dass die Heilung respective das Aufhören der Vermehrung der Infectionserreger mit einer Aufnahme der letzteren durch fixe oder mobile zellige Elemente des Körpers (Makro- und Mikrophagen) verbunden ist. Auf Grund dieser, an sich zweifellos richtigen Beobachtungen hat dann Metschnikoff die Ansicht aufgestellt, dass das Auffressen und die Vernichtung der Bakterien durch die Zellen als wichtigstes Abwehrmittel des thierischen Organismus gegenüber den Infectionserregern und somit als wesentlichste Ursache der natürlichen Immunität und Heilung von Infectionen, ferner auch in Folge eintretender Angewöhnung der Zellen an das Auffressen als Ursache der erworbenen Immunität zu betrachten sei.

Die Phagocytentheorie ist somit die einzige, welche eine vollständige, allen Seiten des Immunitätsproblems gerecht werdende Lösung zu geben scheint. Aber man kann nicht leugnen, dass die von ihr versuchte Deutung der Vorgänge zwar, im Sinne der Idee von einer ererbten Anpassung der Mesodermzellen an das Auffressen fremdartiger Körperchen, eine wahrscheinliche ist, zunächst jedoch keine nothwendige genannt werden kann. Ebensogut wäre es von vorneherein möglich, dass die Bakterien bei der natürlichen oder erworbenen Immunität in erster Linie durch eine andere, mikroskopisch unsichtbare, in chemischen Wirkungen der Körpersäfte beruhende Ursache an der Vermehrung gehindert, krankhaft beeinflusst und schliesslich getödtet würden, während der Phagocytose dann nur die Bedeutung eines secundären Vorganges zukäme. Auch dies würde dem theoretischen Bedürfnisse insoferne genügen, als die Idee von der Anpassung der amöboiden Zellen an den Zweck der Resorption, des Auffressens körperlicher Elemente, nicht verlangt, dass dieser Vorgang gerade nothwendig mit einem Kampf zwischen den verschiedenartigen Zellen verbunden sein müsse.

Zum strengen Beweise der Phagocytentheorie wäre es daher erforderlich, den eventuellen Einfluss chemischer Ursachen vollkommen auszuschliessen, was aber, wie sub III gezeigt werden wird, gegenüber den nachweisbar vorhandenen bakterienfeindlichen Wirkungen der zellenfreien Körpersäfte ganz unmöglich ist.

Die Phagocytentheorie in ihrer strengen Fassung ist deshalb unbewiesen; es ist aber auch nicht möglich, die Annahme einer zweckmässigen Abwehrthätigkeit von Seite der Phagocyten vollständig zu widerlegen. Seitdem dargethan wurde, dass lebende und sogar noch virulente Bakterien gefressen werden können (Metschnikoff, ferner

Koch, Petruschky, Lubarsch, Ribbert und Lähr), und seitdem die Degenerationsercheinungen an eingeschlossenen Bakterien in verschiedenen Fällen demonstriert wurden (Metschnikoff), lässt sich die principielle Berechtigung dieser Ansicht nicht mehr bestreiten. Die Phagocytose ist damit als ein nützlicher Vorgang, als eines unter den vorhandenen Abwehrmitteln gegenüber den Infektionserregern erwiesen; aber es handelt sich noch um den Grad von Wichtigkeit und von Allgemeingültigkeit, welchen man diesem Vorgang gegenüber anderen Schutzeinrichtungen des thierischen Körpers zumessen will. In dieser Beziehung hat die neuere Forschung mehr und mehr ergeben, dass der Phagocytose eine weit geringere Bedeutung zukommt, als man Anfangs gedacht hatte. Die Beweise hiefür werden aus dem Nachfolgenden und dem sub III Angeführten hervorgehen.

Einwände gegen die Phagocytentheorie.

Von diesen sind die ersten beiden nur von geringer, der dritte und vierte aber von schwerwiegender Bedeutung.

1. Mehrere Beobachter konnten beim Milzbrand der natürlich immunen Tauben und weissen Ratten und bei Rauschbrand verschiedener refractärer Species keine Phagocytose beobachten (Czaplewski, Lubarsch, Behring, Frank, Rogowicz), während andere Untersucher dieselbe gesehen haben (Metschnikoff, Hess).

2. Es wurde eingewendet, dass auch bei tödtlich endenden Infectionsprocessen (Tuberculose, Mäusesepticaemie, Schweinerothlauf, Streptococcenaffectationen u. s. w.) Phagocytose in grösstem Umfange vorkommt, was der Idee der Phagocytentheorie widerspreche. Bei dem complicirten Bau des thierischen Organismus können jedoch die verschiedenartigsten Processe neben einander auftreten, die Infectionserreger ganz wohl in dem einen Organe oder Organtheil zu Grunde gehen, in einem andern aber Sieger bleiben.

3. Wichtig sind die Resultate, welche von mehreren Forschern (Petruschky, Baumgarten-Fahrenheit, Pekelharing) bei Versuchen erlangt wurden, in denen Anthraxsporen oder Bacillen in kleinen Päckchen von Filtrir- oder Pergamentpapier oder in pflanzliche und thierische Membranen eingeschlossen unter die Haut von Fröschen und Kaninehen eingeführt wurden, um hiedurch den Zutritt von Leukoeyten abzuhalten und die Körpersäfte allein zur Wirkung kommen zu lassen. Die Experimente ergaben Tödtung der Bacillen und Sporen oder wenigstens Behinderung des Auswachsens der letzteren, was beweist, dass Phagocytose zu diesem Zweck nicht erforderlich ist.

Metschnikoff erhielt dagegen (auch in neuesten Versuchen mit Watteinschluss bei weissen Ratten) direct entgegengesetzte Resultate und glaubt hierdurch die Ergebnisse der vorerwähnten Autoren widerlegt zu haben. Dies ist jedoch ein Irrthum. Es gibt allerdings viele Fälle, in denen ein negatives Resultat ebenso viel Beweiskraft hat wie ein positives. Allein in diesem speciellen Falle ist das nicht der Fall, aus folgenden Gründen.

Die bacterienfeindliche Wirkung der Gewebssäfte ist keine unbegrenzte, keine absolute, nicht analog der eines gewöhnlichen Antiseptics; sondern sie ist—entsprechend der hochgradigen Labilität der wirksamen Stoffe—nur eine relative, abhängig von den quantitativen Verhältnissen. Jede Volumeneinheit eines bestimmten Blutes oder Serums vermag nur eine beschränkte Zahl von Bacterien bestimmter Art zu vernichten. Steigt die Bacterienzahl über diese Grenze, oder ist dieselbe von vorneherein eine zu grosse, dann findet keine oder nur eine geringere Vernichtung und bald wieder Zunahme der ausgesäten Bacterien statt. Diese Fundamentalthatsache, die von Metschnikoff stets übersehen wurde, geht schon aus den Versuchen von Nissen und meinen mit Fr. Voit ausgeführten Untersuchungen hervor.

Die quantitativen Verhältnisse sind bei Experimenten über bacterienfeindliche Wirkungen der Gewebssäfte stets zu berücksichtigen. Dies ist aber kaum ausführbar bei Versuchen mit Päckchen von Papier oder Membranen, weil die Quantität der Gewebssäfte, die in einer bestimmten Zeit in die Päckchen eindringt, ganz unbestimmt und möglicher Weise sehr klein ist. In letzterem Falle werden die Bacterien sich vermehren können, ohne dass darin ein Beweis im Sinne Metschnikoff's gefunden werden kann; während umgekehrt das Ausbleiben der Vermehrung und die, trotz Mangels an Phagocyten unter günstigen Bedingungen eintretende Tödtung allerdings Beweiskraft besitzen, indem dieses Ergebniss durch gar nichts anderes verursacht sein kann, als durch die bacterienfeindlichen Wirkungen der Gewebssäfte. Letzteres ist beispielsweise der Fall bei den Versuchen von Pekelharing, wo virulente Anthraxbacillen mit Sporen in Pergamentpapier-Päckchen subcutan bei Kaninchen eingebracht stets innerhalb 11 Tagen ihre Infectiousfähigkeit vollkommen verloren hatten.*

Der grossen principiellen Bedeutung dieser Verhältnisse wegen habe ich die Herren Ibener und Roeder veranlasst, in meinem Laboratorium neue Versuche über die Frage anzustellen. Dieselben ergaben eine vollkommene Bestätigung des über den Einfluss der quantitativen Beziehungen Gesagten. Die Versuche wurden nach zwei verschiedenen Verfahrungsarten ausgeführt.

(a) Zuerst wurde bewiesen, dass in gleichen Portionen des nämlichen Serums bei Aussaat einer bestimmten Bacterienart entweder Vernichtung aller Keime eintrat oder Lebendbleiben und sogar Vermehrung derselben, je nach der Menge von Bacterien, die in dem zur Aussaat dienenden Tropfen enthalten waren. Diese Menge liess sich dadurch regeln, dass die Aussaattropfen zwar aus der nämlichen Emulsion entnommen wurden, aber bei verschiedenem Verhältniss der Verdünnung. Der Beweis wurde dabei stets geliefert, dass auch die ver-

* Analoge Einwände sind übrigens auch zu erheben gegen Metschnikoff's Versuche mit einzelnen Tropfen von Serum, Humor aquens, Exsudatflüssigkeit, welche mit Bacterien geimpft und in eine mikroskopische Kammer eingeschlossen werden. Auch hier können die bacterienfeindlichen Wirkungen der Gewebssäfte möglicher Weise wegen der ungünstigen quantitativen Verhältnisse verborgen bleiben.

dünntesten Emulsionen noch reichlich genügende Keime zur Infection des Serums enthielten.

(b) Weit anschaulicher und für die Verwerthung des Resultates wichtiger ist die zweite Art der Versuchsanordnung. Hier wurden in einen Theil der Blut- oder Serumproben die Bacterien wie gewöhnlich ausgesät, so dass sie sich frei in der Flüssigkeit vertheilen konnten; in einem andern Theil der Proben wurde letzteres verhindert, indem man den als Aussaat dienenden Tropfen Culturflüssigkeit zuerst von einem kleinen sterilisirten Päckchen von entfetteter Watte aufsaugen liess und dieses dann im Blut oder Serum versenkte. Die Aussaatmenge war dabei ebenso gross wie in den ersterwähnten Proben, aber ein beträchtlicher Theil der Bacterien wurde zwischen den Fasern der Baumwolle zurückgehalten und konnte sich nicht frei in der Flüssigkeit vertheilen.

Das Resultat dieser Versuche war, dass zwischen den Blut- oder Serumproben mit freier Aussaat und jenen mit Wattepäckchen ein wesentlicher Unterschied sich herausstellte. Zwar in den ersten Stunden vermindern sich auch in den letzteren Röhren manehmal die Zahl nachweisbarer Keime, oft bis zur anscheinend gänzlichen Vernichtung. Es sind dies die aus den Wattepäckchen beim Eintauchen in die Flüssigkeit abgelösten, frei im Serum vertheilten Bacterien. Aber die in den tieferen Schichten der Watte festgehaltenen Bacterien entgehen der Vernichtung, dauern aus bis zum Erlöschen der bacterienfeindlichen Wirkung, vermehren sich dann und kommen aus der Watte wieder hervor, so dass nach 24 Stunden regelmässig schon starke Zunahme der Bacterienzahl in den betreffenden Röhren constatirt werden kann.

Besonders evidentes Ergebniss hatte ein Versuch mit Kaninchenblut und Cholera-vibrionen. Nach 24 Stunden erwiesen sich die Röhren mit freier Aussaat definitiv als steril, während—bei gleicher Aussaatgrösse—jene mit Wattepäckchen eine reichliche Menge von Cholera-vibrionen enthielten.

Ein Versuch mit Pferde-Serum und Typhusbacillen ergab folgende Zahlen :

	Colonienzahl auf den Platten		
	sofort nach Aussaat	nach 4 Stunden	nach 24 Stunden
Proben mit freier Aussaat von Typhus- bacillen - - - - {	1,490 1,358 2,280	18 52 71	580 494 768
Proben mit Aussaat der Typhusbacillen auf Wattepäckchen - - {	1,534 798 1,560	7 4 15	61,225 35,550 15,660

Hier waren allerdings auch bei freier Aussaat die Typhusbacillen nicht endgültig vernichtet worden; die Wirksamkeit des Serums war hiefür eine zu geringe. Aber der günstige Einfluss der Wattepäckchen auf die Entwicklung der Bacterien ist doch unverkennbar.

Sehr deutlich ist dieser Einfluss endlich wieder in den Zahlen des folgenden Versuches mit Hunde-Serum und Typhusbacillen ausgesprochen :

	Colonienzahl auf den Platten		
	sofort nach Aussaat	nach 4 Stunden	nach 24 Stunden
Proben mit freier Aussaat von Typhus- bacillen - - - - }	3,564 3,676	566 672	3 1
Proben mit Aussaat der Typhusbacillen auf Wattepäckchen - - - }	992 1,150	758 784	112,575 94,800

Der Einfluss der Wattepäckchen ist jedenfalls darin begründet, dass in die engen Räume zwischen den Fasern der Baumwolle nur sehr wenig Blut oder Serum einzudringen vermag, welches nicht im Stande ist, die dort vorhandenen Bacterien definitiv zu vernichten. Die Anwendung dieser Ergebnisse auf die Versuche von Metschnikoff mit Päckchen von Papier oder Membranen versteht sich von selbst. Die Resultate besitzen aber noch eine grössere Tragweite direct für die Verhältnisse im lebenden Körper, wie unten gezeigt wird.

4. Der wichtigste Einwand gegen die Phagocytentheorie bezieht sich auf die Frage: Wodurch werden die amöboïden Zellen des Körpers veranlasst, sich der in den Organismus eingedrungenen Bacterien zu bemächtigen und dieselben in sich aufzunehmen?

Man denkt hier zunächst an die Befähigung amöboïder Zellen zur Aufnahme corpusculärer Elemente, welche durch die tactile Reizbarkeit der Leukocyten erklärt wird. Diese Annahme ist jedoch eine irrthümliche: nicht der tactile Reiz, den die lebenden oder todtten Bacterien als Fremdkörper im Gewebe ausüben, ist die Ursache der Zuwanderung von Leukocyten und schliesslich der Phagocytose, sondern die Ursache liegt in einer chemischen Reizung — Chemotaxis — vermittelt durch gewisse Producte der Bacterienzellen. Dies geht bereits aus den Untersuchungen von Massart und Bordet und von Gabritchevsky mit Klarheit hervor.

Die chemische Reizung und Anlockung wirkt überhaupt weit intensiver auf die Leukocyten als die tactile, und letztere kommt gegen erstere bezüglich der Wirksamkeit kaum in Betracht. Zu diesem Schluss gelangte namentlich auch Leber in seinen umfangreichen Untersuchungen; unter anderem ist dort der Beweis geliefert, dass fein zerriebene Pulversorten sehr verschieden chemotactisch auf Leukocyten wirken je nach der Natur der Substanz, z. B. Gold, Silber, Eisen fast gar nicht, Kupfer und verschiedene Quecksilberverbindungen dagegen sehr stark, während die tactile Reizung auch bei Gold, Silber und Eisen vorhanden sein müsste.

Wenn man vergleichende Versuche anstellt zwischen Bacterien und leblosen Körnchen bezüglich der Leukocyten-Anlockung, so zeigen erstere eine weit stärkere Wirkung. Pekelharing sah in Froschllympe

Anthraxbacillen viel schneller und in viel grösserer Zahl von Leukocyten gefressen werden als Carminkörnchen. Versuche, die Herr A. Schmidt auf meine Veranlassung in meinem Laboratorium kürzlich anstellte, ergaben, dass binnen 10 Stunden im subcutanen Gewebe von Kaninchen die sterilisirten Pulver von Holzkohle, Infusorienerde und Calciumcarbonat keine Leukocytenansammlung bewirkten, Zinnober und Carmin eine mässig starke, sterilisirte Cultur von *Bacillus pyocyaneus* dagegen eine sehr reichliche, welche die Wirkung des fein vertheilten Zinnobers und Carmins bei weitem übertrifft. Man darf solche Versuche nicht länger als 10–15 Stunden dauern lassen; später sammeln sich auch bei den weniger wirksamen Pulversorten Leukocyten an, obwohl stets in weit geringerer Menge.

Die Bakterien wirken also durch chemische Stoffe anlockend auf Leukocyten. Die Natur dieser Stoffe habe ich in meinen Untersuchungen im vorigen Jahre festzustellen gesucht, und habe gefunden, dass es eben jene, dem plasmatischen Inhalt der Bacterienzelle entstammenden eiweissartigen Körper, die Bacterienproteine sind, welche bereits sub B erwähnt wurden. Die chemotactische Wirkung der möglichst rein dargestellten Proteine ist eine sehr intensive. In neuesten Versuchen von A. Schmidt ergab sich, dass selbst bei Verdünnung des *Pyocyaneus* - Proteins im Verhältniss 1 : 3,000 mit steriler 0·7 NaCl Lösung noch eine deutlich anlockende, d. h. eine wesentlich stärkere Wirkung auf Leukocyten wahrzunehmen ist, als sie der blossen indifferenten Salzlösung an sich zukommt. Bei 1 : 300 ist die Wirkung sehr kräftig, bei 1 : 30 ganz ausserordentlich stark, so dass binnen 18 Stunden unzählige Leukocyten sich ansammeln.

Von meinen Untersuchungen über die Bacterienproteine seien die Wesentlichsten hieher gehörigen Resultate angeführt :

(a) Die chemotactische Wirkung der Bacterienproteine kann nicht etwa zurückgeführt werden auf spurenweise Verunreinigung der isolirten Proteine durch unbekannte andere bakterielle Producte. Hiergegen spricht namentlich die Thatsache, dass das chemisch den Proteinen sehr nahe verwandte Glutencasein aus Weizenkleber bei reinster Darstellung fast ebenso stark chemotactisch wirkt wie die Proteine, ferner ebenso die aus Muskel, Leber, Thymus u. s. w. gesunder Thiere hergestellten Alkalialbuminate, obwohl in diesen letzteren Fällen die Verunreinigung mit bakteriellen Producten absolut ausgeschlossen ist. Dies zeigt, dass die locale Leukocytose, d. h. die Zuwanderung der Leukocyten ihrem eigentlichen Wesen nach keineswegs ausschliesslich mit bakteriellen Infectionen in Beziehung steht. Vielmehr erscheint dieser Vorgang wesentlich verknüpft mit allgemeinen Resorptionsprocessen, indem offenbar Eiweisskörper von bestimmter Art oder vielmehr erste Umwandlungsproducte von Eiweisskörpern die wichtigsten chemischen Anlockungsmittel für Leukocyten darstellen. Die durch Bacterienproteine bedingte Chemotaxis ist dem gegenüber nur als ein specieller Fall im Rahmen einer allgemeinen Thatsache aufzufassen.

(b) In Uebereinstimmung hiemit erwiesen sich die eigentlichen Stoffwechsel- und Gährungsproducte der Bakterien (Amidosäuren,

Aminbasen, Fettsäuren u. s. w.) entweder gar nicht oder nur in geringem Grade chemotactisch.

(c) Die gesammten Culturflüssigkeiten (von Bactereien zeigen allerdings fast immer chemotactische Wirksamkeit, gleichviel ob dieselben in lebendem oder sterilisirtem Zustand angewendet werden. Aber das ist nicht durch die darin enthaltenen Stoffwechsel- und Gährungsproducte bedingt, sondern durch die von den Baeterienzellen in löslicher Form ausgeschiedenen Proteine.

(d) Die Ausscheidung von Proteinen aus dem plasmatischen Inhalt der Bacterienzelle erfolgt nicht während des lebhaften Vermehrungsvorganges (im Gegensatz zur Production von Toxinen, Ptomainen und sonstigen Zersetzungsstoffen), nicht im vollkräftigen Zustand der Zelle, sondern es ist eine Alterserscheinung, welche einem krankhaften Zustand der Zelle, dem Involutionsproceß, dem allmählichen Absterben entspricht. Deshalb findet Ausscheidung von Proteinen statt in allen älteren Culturen, wo stets ein Theil der Zellen in Involution geräth (weshalb auch die Filtrate soleher Culturen immer chemotactisch wirken); ferner bei künstlicher Tödtung der Zellen, wohin namentlich das Verbringen derselben in die Körpersäfte des thierischen Organismus gehört, die in der Regel schädigend, sehr oft tödtend auf die Bacterien einwirken.

Letzteres ist nicht der Fall bei specifisch hochvirulenten Bacterien. Hühnereholerabacillen gehen in den Körpersäften des Kaninchens nicht zu Grunde, scheiden folglich keine Proteine aus, und es fehlt deshalb die bei allen weniger virulenten Bacterien sich findende starke Leukocytenanlockung. Aber, wenn man die Hühnercholera bacillen vor der Anwendung durch Hitze sterilisirt, wobei Antheile von Proteïn aus den Bacterien extrahirt werden, dann ist die Anlockung wesentlich stärker (Gabritchevsky), während es bei den nicht virulenten Bacterien ganz gleichgültig ist, ob sie in lebendem oder sterilisirtem Zustand angewendet werden.

Das Gleiche lehrt folgender Versuch, den Herr A. Schmidt in meinem Laboratorium ausführte. Nach 20 Stunden betrug die durchschnittliche Leukocytenansammlung in der Subcutis von Kaninchen:*

			Leukocyten.
Hühnereholera (Cultur in Bouillon, 3 Tage alt)	lebend	-	1·9
	sterilisirt	-	13·6
	(10 Min. bei 100°)		
Diploeoccus pneumoniae (Cultur in Bouillon, 3 Tage alt)	lebend	-	3·8
	sterilisirt	-	15·6
	(10 Min. bei 100°)		

Je stärker ein Mikroorganismus durch die Körpersäfte des betreffenden Thierorganismus geschädigt wird, um so mehr muss es zur Proteinausscheidung und in Folge dessen zur Anlockung von Leuko-

* Die Culturen wurden in sterilen Glasröhrchen in die Subcutis von Kaninchen eingeführt. Nach 20 Stunden wurden die Röhrchen herausgenommen, ihr Inhalt auf Deckgläschen ausgeblasen, gefärbt und aus 50 Gesichtsfeldern eine Mittelzahl für die vorhandenen Leukocyten berechnet.

eyten kommen. Darum ist die Phagocytose gegenüber Anthraxbacillen beim Frosch eine besonders intensive, viel stärker als beim Kaninehen, nicht weil die Anthraxbacillen Stoffe ausscheiden, welche auf Frosch-Leukoeyten besonders irritirend wirken (Pekelharing), sondern weil die Froschlymphe stärker schädigend auf Anthraxbacillen einwirkt als die Körpersäfte des Kaninehens. Darum ferner zeigte sich die Leukocytose in Versuchen von Charrin und Gamaleïa ("Vaccination et accoutumance") stärker bei Injection von lebender Pyocyaneus-Cultur in refractäre Thiere als in normale, weil die Bacillen bei ersteren rascher zu Grunde gehen. Während die sterilisirte Culturflüssigkeit ("produits solubles") bei refractären und normalen Kaninehen die gleiche Wirkung ergab.

Metschnikoff hat den Satz aufgestellt: Je virulenter ein Mikroorganismus, um so seltener ist seine Anwesenheit in Phagocyten. Dieser Satz entspricht genau den thatsächlichen Verhältnissen; aber die Erklärung des ursächlichen Zusammenhanges ist eine ganz andere, als Metschnikoff annahm. Das primäre Moment scheint immer die Wirkung der Körpersäfte zu sein; erst wenn diese schädigend eingewirkt haben, und wenn in Folge dessen die Ausscheidung von Proteïnen beginnt, dann erfolgt chemotactische Anlockung von amöboïden Zellen. Die Phagocytose ist demnach wesentlich als ein secundärer Vorgang, in Analogie der übrigen Resorptionsvorgänge, bei denen amöboïde Zellen betheiligt sind, zu betrachten. Eine gewisse Mitwirkung der Phagocyten bei der endgültigen Vernichtung der Infectionserreger kann dabei principiell allerdings nicht in Abrede gestellt werden.

III. *Schützende Stoffe in den thierischen Gewebssäften.*

Die ersten Ideen in dieser Richtung stammen von Chauveau her, der mit Toussaint eine Theorie aufstellte, die im Gegensatze zur Erschöpfungstheorie Pasteur's als Hemmungstheorie bezeichnet werden kann. Chauveau ging von seinen Erfahrungen über die natürliche Immunität der algerischen Schafe gegen Milzbrand aus, indem er zeigte, dass bei Injection gewaltiger Mengen des Infectionserregers die Thiere dennoch erlagen. Hieraus schloss er, dass die Bakterien im Organismus des Thieres gewisse Stoffe antreffen, gegen die sie ankämpfen müssen und über die sie leichter obsiegen, wenn sie in sehr grosser Zahl vorhanden sind. Die Löslichkeit dieser Stoffe folgerte Chauveau aus der von ihm beobachteten Vererbbarkeit der erworbenen Immunität von der Mutter auf den Fötus.

Ueber die Natur dieser hemmenden oder schützenden Stoffe war man lange Zeit ganz im Unklaren. Der Gedanke, dass bei der erworbenen Immunität die aromatischen Zersetzungsstoffe der Bakterien selbst eine Rolle spielen könnten (Wernich), ist ganz auszuschliessen, da solche Stoffe bald durch die Nieren secernirt werden müssten. Erst durch die Untersuchungen über die bakterienfeindlichen Wirkungen des Blutes und Serums wurden diese Probleme dem Experimente zugänglich gemacht (Grohmann, Fodor, Nuttall, Behring, Nissen, Buchner mit Fr. Voit, Sittmann und Orthenberger, Stern, Prudden, Rovighi etc.).

Es wurde bewiesen, dass Blut und Serum der verschiedensten Thierspecies und auch vom Menschen auf verschiedene Bakterienarten tödtend einwirkt, ebenso auch entzündliche bakterienfreie Exsudate und Transsudate; endlich auch der ausgepresste Muskelsaft verschiedener Thierspecies, auch nach Neutralisation der freien Säuren (Tria). Dabei ist die Wirkung aber stets nur eine bedingte, relative; jede Art von Blut und Serum wirkt nur auf eine beschränkte Zahl von Bakterienarten, oft in ganz spezifischer Art (Behring und Nissen), und zeigt sich ausserdem abhängig von den quantitativen Verhältnissen, wie dass bereits sub II näher erläutert wurde.

Von den einzelnen, bis jetzt festgestellten Thatsachen seien folgende hier erwähnt:

(1) Mit der Entnahme des Blutes aus dem Körper wird die Wirksamkeit desselben auf Bakterien allmählich geringer; sie erlischt bei längerer Aufbewahrung, konnte aber selbst nach 20 Tagen noch nachgewiesen werden.

(2) Bei Aussaat von Bakterien in Blut oder Serum erfolgt meist Anfangs eine grössere oder geringere Verminderung der Keimzahl, später aber, wenn keine vollständige Vernichtung erfolgt, wieder Vermehrung. Dies deutet auf eine grosse Labilität der bakterienfeindlichen Wirkung; dieselbe wird durch die Bakterien selbst zerstört.

(3) Die grosse Labilität der Wirkung äussert sich ferner gegenüber der höheren Temperatur. Zur Vernichtung der Wirksamkeit des Serums (von Kaninchen) genügt eine halbstündige Erwärmung auf 55°C . oder eine 6-stündige auf 52°C . Schon die Temperatur von 45.6°C . bedingt bei 20-stündiger Dauer eine bedeutende Herabminderung der Wirksamkeit.

(4) Die tödtende Wirkung des Blutes und Serums ist bei höherer Temperatur (37°) eine stärkere, als bei tieferer. Aber auch bei 10° und selbst bei 0° kann dieselbe noch so kräftig sein, dass Anthraxsporen in Kaninchenblut getödtet werden (Pekelharing).

Bei diesen Wirkungen ist die direkte Betheiligung von amöboïden Zellen sicher ausgeschlossen, da auch völlig zellenfreies Serum bakterientödtend wirkt, selbst dann, wenn dasselbe vorher zum Gefrieren gebracht und dann wieder aufgethaut wurde, wodurch die amöboïden Zellen sicher vernichtet werden. Demnach muss die bakterienfeindliche Wirkung durch gelöste Stoffe bedingt sein, welche im Serum, überhaupt in den Gewebssäften, unabhängig von der Gegenwart zelliger Elemente, vorkommen.

Die Hauptfrage ist nun: Können diese bakterienfeindlichen Wirkungen zur natürlichen und zur erworbenen Immunität in ursächliche Beziehung gebracht werden?

Diese Frage muss nach dem gegenwärtigen Stande unseres Wissens entschieden bejaht werden. Die Beweise hiefür ergeben sich am einfachsten, wenn wir die Einwände, welche gegen die Bedeutung der in den Gewebssäften wirksamen Schutzstoffe bisher vorgebracht wurden der Reihe nach besprechen.

Einwände gegen die Bedeutung der in den Gewebssäften wirksamen Schutzstoffe.

(1) Es wurde behauptet, die Bacterientödtung in Blut und Serum sei als blosse Concentrationswirkung aufzufassen, veranlasst durch den raschen Uebergang aus einem Medium geringerer in ein Medium von höherer Dichtigkeit (Metsechnikoff, Haffkin).

Diese Anschauung ist ganz unhaltbar, denn

(a) ertragen Cholera-, Typhus- und Milzbrandbacillen den raschen Uebergang in weit höher concentrirte Lösungen von Zucker, Pepton oder Gelatine ohne Nachtheil;

(b) verliert das Serum bei Erwärmung auf 55° alle tödtende Wirkung, trotz unveränderter Concentration;

(c) wirkt das Serum von Kaninchen noch tödtend auf Typhusbacillen bei 5, 10 und 20facher Verdünnung mit 0·7 Procent NaCl Lösung (Buehner);

(d) wirkt Serum von Ratten nicht auf *Vibrio Metschnikovi*, Serum von Meersehweinehen dagegen (die gegen *V. Metsehn.* refractär sind) nicht auf Anthraxbacillen (Behring und Nissen); d. h. die Wirkung ist eine specifische und kann nicht durch so allgemeine Ursachen, wie höhere Concentration u. s. w. bedingt sein.

(2) Man hat eingewendet, bei den Versuchen über bacterienfeindliche Wirkungen sei nur todttes, extravasculäres Blut und Serum verwendet, das sich vom circulirenden unterscheide wie eine todte Zelle von einer lebenden, und in dem alle möglichen Veränderungen eingetreten sein können. Es fehle der Beweis, dass die hemmende Wirkung auch im lebenden Blute vorhanden ist.

Auch dieser Einwand hat nur eine scheinbare Berechtigung; denn der Uebergang vom lebenden zum todtten Zustande ist, selbst bei der einzelnen Zelle, kein plötzlicher. Derselbe vollzieht sich rascher bei höherer, langsamer bei einfacherer Organisation, weshalb es vollkommen begründet ist, beim zellfreien Serum, der denkbar einfachsten Organisationsstufe, ein längeres Fortbestehen der stofflichen Intactheit nach der Entnahme aus dem Körper vorauszusetzen. Uebrigens lassen sich auch specielle Gegengründe gegen diesen Einwand anführen:

(a) Der Umstand, dass gerade unmittelbar nach der Entnahme aus dem Körper die Wirkung von Blut und Serum am stärksten ist und dann allmählich, im Laufe von Wochen, schwindet, macht es äusserst unwahrscheinlich, dass diese Wirkung in der kurzen Zeit zwischen Entnahme des Blutes bis zur Prüfung erst entstanden sein soll.

(b) Der äusserst zweckmässige, schutzverleihende Charakter der Wirkung macht jene Annahme ebenfalls sehr unwahrscheinlich.

(c) Das Vorhandensein der bacterientödtenden Wirkung des Blutes innerhalb der Gefässe des lebenden Thieres wurde direct erwiesen (Buchner, Stern, Enderlen).

(d) Umgekehrt wurde dargethan, dass 7–8 Stunden nach subcutaner Milzbrandinoculation beim Kaninehen, bevor noch Bacillen im Blute erscheinen, die bacterientödtende Wirkung in dem zu dieser Zeit

entzogenen Blute bereits völlig erloschen ist (Lubarsch). Wenn die schützende Wirkung des Blutes nur durch postmortale Veränderungen bedingt wäre, dann müsste dieselbe auch hier zu Tage treten. In Wahrheit aber erklärt sich dieses Erlöschen der Schutzwirkung durch die zerstörende Action der pathogenen Bacterien auf die labilen schützenden Stoffe, genau wie im extravasculären Blut.

(3) Der soeben besprochene Einwand erhielt eine auseinander un widerlegliche Stütze, als nachgewiesen wurde, dass extravasculäres Kaninchenblut weit mehr Anthraxbacillen zu vernichten vermag, als andererseits zur Tödtung des Thieres bei Injection in den Kreislauf erfordert werden (Lubarsch).

Diese Erscheinung erklärt sich indess sehr leicht, wenn man die quantitativen Verhältnisse berücksichtigt, worauf sub II ausdrücklich hingewiesen wurde. Es ist bekannt, dass im Gesamtkörper die injicirten Bacillen nicht in den grossen Gefässen verweilen, sondern sofort im Capillargebiete an verschiedenen Stellen abgelagert werden; trifft es sich nun, dass mehrere Bacillen gleichzeitig an eine und die nämliche Stelle gerathen, so wird die umgebende geringe Quantität von Serum, wenn sie nicht fortwährend rasch erneuert wird, sehr leicht ungenügend sein können zur Tödtung virulenter Baeterien. Die Folge ist dann umgekehrt eine Zerstörung der labilen Schutzstoffe in dem zunächst umgebenden Serum und damit eintretende Vermehrung der Anthraxbacillen. Es bildet sich ein localer Infectionsherd, und von da aus erfolgt durch weitere analoge Vorgänge unaufhaltsam die Infection des gesammten Organismus. Die sub II angeführten Versuche mit Wattepäckchen bilden die vollkommenste Illustration zu diesem Hergang. Das nämliche, was dort in den capillaren Zwischenräumen der Baumwollfasern zu Stande kommt, muss auch in den Capillaren des Körpers erfolgen können.

(4) Ein oft erhobener Einwand besteht darin, dass auch das Blut und Serum specifisch empfänglicher Thiere tödtend auf die specifischen Baeterien einwirkt, während umgekehrt das Blut und Serum natürlich immuner oder künstlich immunisirter Thiere in manchen Versuchen keine bacterienfeindliche Wirkung erkennen liess.

Die soeben, ad (3) gegebenen Erläuterungen beantworten zum Theil auch diesen Einwand. Ein empfängliches Kaninchen würde der gewöhnlichen Anthraxinoculation im Laboratorium wahrscheinlich niemals erliegen, wenn man, anstatt subcutaner oder intravenöser Injection des Infectionserregers, dem Thier die Hälfte seines Blutes entziehen und die Bacillen oder Sporen in dem extravasculären Blut vertheilen würde. Man darf die Verhältnisse bei einem Infectionsprocess demnach nicht so schematisch beurtheilen, wie dies vielfach geschieht. Immer kommt es auf die localen Bedingungen an, dort, wo die Infectionserreger sich im Gewebe oder in den Capillaren gerade angesiedelt haben. Bei der complicirten Organisation der höheren Thiere kann es aber im nämlichen Organismus möglicherweise Localitäten mit sehr verschiedenen Bedingungen geben, vielleicht auch mit abweichender Labilität der schützenden Stoffe. Jedenfalls unterliegt letztere individuellen Schwankungen.

Dies Alles lässt begreiflich erscheinen, weshalb die Verhältnisse nicht so einfach zu Tage liegen und der Deutung in einzelnen Fällen auch fernerhin Schwierigkeiten entgegengesetzt werden. Immerhin sprechen folgende Resultate und Ueberlegungen schon jetzt entschieden zu Gunsten eines ursächlichen Zusammenhanges zwischen Immunität und baeterienfeindlicher Wirkung:

(a) Blut und Serum der für Anthrax absolut empfänglichen Meerschweinchen und Mäuse zeigen auch extravasculär keine tödtende Wirkung auf Anthraxbaecillen (Lubarsch, Behring).

(b) Kein für Anthrax empfängliches Thier liefert stärker tödtendes Serum als die natürlich immunen weissen Ratten (Behring und Nissen).

(c) Blut oder Serum künstlich immunisirter Thiere zeigte in vielen Fällen stärker vernichtende oder wachstumshemmende Wirkung auf die specifischen Bacterien, als Blut oder Serum normaler Thiere (Charrin und Roger bei *B. pyocyaneus*, Erysipel und Rauschbrand, Zäselein bei Cholera, Behring und Nissen bei *Vibrio Metchnikovi*, Gamaleïa bei Anthrax).

(d) Blut oder Serum künstlich immunisirter Thiere wirkt ab schwächend auf die specifischen Infectionserreger (Metchnikoff bei Anthrax, Roger bei Erysipel).

(e) Ausser der, bei verschiedenen Thierspecies möglicherweise verschieden grossen Labilität der schützenden Stoffe im Serum,* kommt als Grund mangelnder bacterientödtender Wirksamkeit in manchen Fällen auch die Anwesenheit von Stoffen in Betracht, welche die baeterienfeindlichen Einflüsse bis zu einem gewissen Grade zu paralysiren im Stande sind. Die Möglichkeit einer derartigen Paralysisirung ergab sich in meinen Untersuchungen hauptsächlich daraus, dass im Kaninehen-Blut nach dem Gefrieren und Wiederaufthauen die bacterienfeindliche Wirksamkeit sich erloschen zeigt, während das zellenfreie Kaninehen-Serum selbst durch oftmals wiederholtes Gefrieren und Wiederaufthauen nicht das mindeste von seiner Action einbüsst. Der Grund dieser Verschiedenheit kann nur in dem Zerfall der rothen Blutkörperchen beim Gefrieren liegen, wodurch Stoffe dem Serum beigemischt werden, welche die tödtende Wirkung zu paralysiren vermögen—wahrscheinlich dadurch, dass sie besonders gut ernährend und darum kräftigend für die Bacterien wirken. Uebereinstimmend damit habe ich mit Serum aus defibrinirtem Blut, wobei immer rothe Körperchen zu Grunde gehen, stets schwankende Resultate erhalten, dagegen bei völlig reinem Serum immer bacterientödtende Wirksamkeit. Es wäre demnach möglich, dass bei gewissen Thierspecies oder auch bei einzelnen Individuen durch besondere Labilität der rothen Körperchen derartige paralysirende Stoffe in das extravasculäre Serum gelangen und die bacterienfeindliche Wirkung verdecken könnten.

* Bei meinen Untersuchungen (Arch. f. Hyg., Bd. X) konnte ich kein Pferdeserum von bacterientödtenden Eigenschaften erhalten. Neuerdings bekam ich solches von kräftiger, positiver Wirkung.

Alles bisher Angeführte weist bereits mit Bestimmtheit auf einen ursächlichen Zusammenhang zwischen der Wirkung der schützenden Stoffe im Serum, überhaupt in den Gewebssäften, und zwischen der natürlichen und erworbenen Immunität hin. Noch deutlicher wird dies aus folgenden neuesten Ergebnissen:

(a) Antitoxische Wirkung des Serums von gegen Tetanus immunisirten Thieren gegen das Tetanusgift in- und ausserhalb des Thierkörpers (Behring und Kitasato, Tizzoni und Cattani);

(b) ebenso des Serums von gegen Diphtherie immunisirten Thieren gegen das Diphtheriegift (Behring and Kitasato).

(c) Immunisirende und heilende Wirkung von Frosch- und Hundeserum gegen Anthrax bei Mäusen (Ogata).*

(d) Immunisirende und heilende Wirkung von Serum und Gewebssaft von gegen Schweinerothlauf immunisirten Kaninchen gegen die gleiche Infection (Emmerich).

Es wäre sehr verlockend, die, wie es scheint, ausserordentlich grosse Tragweite dieser Resultate in praktischer und theoretischer Hinsicht eingehend zu würdigen; doch sind die bezüglichen Mittheilungen grösstentheils noch zu wenig ausführliche, um dies im gegenwärtigen Augenblicke bereits zu ermöglichen.

Nur eine Consequenz sei erwähnt, diejenige bezüglich der Natur der schützenden Stoffe. Nach den Resultaten von Diffusionsversuchen wurde früher schon geschlossen (Buehner und Orthenberger), dass es sich um Eiweisskörper von sehr labiler Beschaffenheit handeln müsse. Diese Annahme besitzt in der That nach neuesten Versuchen von Haukin und ferner von Ogata die grösste Wahrseheinlichkeit; sie kann aber besonders nach den oben mitgetheilten Ergebnissen kaum mehr bezweifelt werden.

Man bezeichnet diese Körper sehr häufig als "Gifte," weil sie auf die Baeterien giftig wirken. Dieser Sprachgebrauch ist jedoch verwirrend, da wir unter Giften eigentlich solche Stoffe verstehen, die auf den thierischen Organismus schädlich wirken, während viele Gifte durch die Baeterien selbst erzeugt werden. Viel richtiger wäre daher die Bezeichnung "Schutzstoffe" oder, um ein bequemes Wort zu haben, "Alexine" (von ἀλέξειν = abwehren, schützen).

Ueber die Eigenschaften der Alexine lässt sich bisher noch folgendes aussagen:

(a) Jedenfalls können die Alexine nicht blosse gewöhnliche Oxydationsproducte der Gewebe sein; dies ist durch ihre spezifische Natur, ihre spezifischen Beziehungen zu einzelnen Baeterienarten von vorneherein ausgeschlossen.

(b) Andererseits können die Alexine auch mit den ungeformten Fermenten oder Enzymen nicht identificirt werden, da die Enzyme hydrolytische Spaltungen bewirken, auf Baeterien dagegen ganz unwirksam sind, während die Alexine unfähig sind zur Hydrolyse, umgekehrt aber auf Baeterien schädigende Wirkungen ausüben.

(c) Die ungemein grosse Labilität der Alexine, welche noch weit ausgesprochener ist als bei den Enzymen, weist darauf hin, die Alexine als höchst complicirt gebaute Eiweisskörper aufzufassen. Darin allein kann auch das dunkle Räthsel der specifischen Function—welche einerseits an die specifischen Gährwirkungen, anderseits an die specifischen Enzymwirkungen erinnert—einigermassen seine Erklärung finden. Es scheint sich um einen halb-organisirten Zustand zu handeln, wie denn die Vernichtungstemperatur der Alexine mit der allgemeinen Tödtungstemperatur für thierisches Protoplasma nahe zusammenfällt. Vielleicht liegt übrigens die Specifität mehr in einer specifischen Resistenzfähigkeit begründet, indem die Alexine eines specifisch immunisirten Organismus dem betreffenden specifischen Infectionserreger gegenüber, and zwar nur diesem gegenüber, geringere Labilität, d. h. also grössere Resistenzfähigkeit zeigen.

(d) Ueber die Herkunft der Alexine können wir nur annehmen, dass dieselben jedenfalls von zelligen Elementen irgend welcher Art herkommen, respecitive erzeugt sein müssen. Im fertigen Zustand aber ist ihre Existenz und Wirksamkeit von den Zellen vollständig unabhängig. Möglicher Weise können sich die Alexine im lebenden Körper lange Zeit unverändert erhalten, ohne dass es einer neuen Erzeugung bedürfte.

(e) Die früher erhobene Frage, ob bei der Immunität die schützenden Stoffe im Organismus ständig vorhanden sind oder immer erst im Augenblick der Infectionsgefahr erzeugt werden, ist durch die neueren Versuche im Sinne der ersteren Eventualität als entschieden zu betrachten.

On Immunity.

BY

E. H. HANKIN, B.A., Fellow of St. John's College, Cambridge.

Since Pasteur's celebrated discovery that it is possible to make animals immune against chicken cholera and other diseases by the use of attenuated vaceins, the nature of immunity, whether natural or acquired, has attracted to an ever increasing extent the attention of baeteriologists. Year by year new theories have been brought forward to explain these phenomena. It is not my intention to attempt to diseuss these earlier theories, partly beecause I prefer to leave this to abler hands, partly beecause the more recent theories on this subject tend rather to supplement than to exelude their predeeessors. I should like, however, to point out how our modern views on this subject are acquiring greater precision and definiteness as time goes on. The view that acquired immunity was due to an alteration of the metabolism of the tissue cells, either in general or at the seat of infection (Grawitz,

Buchner) is now found as the phagocyte theory, with which the name of Metschnikoff will ever be honourably connected. The supposition of Chauveau and others that immunity was caused by the presence of some unknown substance of bacterial origin, is now overshadowed by the results obtained by many workers who have actually found bacteria-killing substances in immune animals, whose nature and origin, however, appears to be very different from what Chauveau's theory might have led us to expect. It is to a consideration of this view of the nature of immunity that I propose chiefly to devote my paper.

Towards the end of 1888 Nuttall* discovered that various bacteria are destroyed when mixed with fresh blood or blood serum, and further, that this destruction cannot be ascribed to the action of cellular elements, but rather to the fluid part of the blood. This discovery (which really arose from the German criticism of Metschnikoff's phagocyte theory) was soon followed by the work of Buchner† and of Behring and Nissen,‡ and these observers came to the conclusion that this bactericidal action of the cell-free blood serum is a weighty factor in the conflict between the organism and the microbe. A further confirmation of this view is to be found in the interesting discoveries of Bouchard.§ He first showed that the blood serum of an ordinary rabbit will serve as a culture medium for the bacillus pyocyaneus. If, however, a rabbit is made immune against the disease produced by this bacillus, its blood serum has acquired the power of attenuating and even destroying the microbe in question. Thus it was shown that by making an animal immune against a disease, the bactericidal action of its blood serum was greatly increased. Similar results have since been obtained with the microbes of cholera, anthrax, and other diseases. Among these must be mentioned the recently published work of Emmerich and Mastbaum|| on pig typhoid. Not only have these observers found that the microbes of this disease are killed by the blood serum of rabbits that have been rendered immune against it, but they have successfully employed such serum to cure the disease after it has appeared in other susceptible animals. These discoveries concerning the bactericidal action of blood serum led to another of a very different, and I may say, unexpected, nature. I refer to the work of Behring and Kitasato¶ on tetanus and

* Nuttall.—“Experimente über die bakterienfeindlichen Einflüsse des thierischen Körpers,” *Zeitschrift für Hygiene*. Vol. IV., 1888, p. 353.

† “Ueber die bakterientödtende Wirkung des zellenfreien Blutserums,” *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde*. Vol. V., p. 817, and Vol. VI., p. 1, 1889.

‡ “Zur Kenntniss der bakterienvernichtenden Eigenschaft des Blutes,” *Zeitschrift für Hygiene*. Vol. VI., 1889, p. 487.

§ “Sur l'effet des produits sécrétés par les microbes pathogènes.”—Paris, 1890.

|| “Die Ursache der Immunität, die Heilung von Infectiouskrankheiten speciell des Rothlaufs der Schweine, und ein neues Schutzimpfungsverfahren gegen diese Krankheit,” *Archiv für Hygiene*, 1891.

¶ “Ueber das Zustandekommen der Diphtherie-immunität und der Tetanus-immunität bei Thieren,” *Deutsche medicinische Wochenschrift*, 1890, No. 49, and Behring “Untersuchungen über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität bei Thieren,” *Deutsche medicinische Wochenschrift*, 1890, No. 50.

diphtheria which appeared at the end of last year. With these last-named diseases our attention is at once drawn from the microbes to the poisons they produce. The microbes of tetanus and diphtheria do not spread through the body of the infected animal, as is the case with anthrax. On the contrary, they remain in the immediate neighbourhood of the seat of inoculation. There they elaborate their deadly poisons, which, when absorbed into the system, produce, as is well known, various disastrous effects. For instance, an inoculated guinea-pig will in some cases develop typical diphtherial paralysis long after the last diphtheria bacillus has vanished from its system, and practically the same clinical effects can be produced by an injection of a minute dose of the poison made by the diphtheria microbe as by the microbe itself. Fränkel, Behring, and other observers agree that scarcely any tolerance can be obtained by successive inoculations of minute doses of the unaltered diphtheria poison; consequently such a procedure can scarcely be expected to lead to a sure way of producing immunity against this disease. How, then, it may be asked, can we ever hope to find a cure for diphtheria? Suppose, for example, a substance was discovered which could kill the diphtheria microbe without harming the living animal tissues, how could this cure disease when it has once appeared? The blood serum of rats possibly contains such a substance, but what could be the use of using it to destroy diphtheria bacilli in a patient if it leaves untouched the diphtheria *poison*, which, in the absence of the microbes that produced it is quite capable of destroying the health of the patient?

The above-mentioned work of Behring and Kitasato disposed of the pertinency of these questions. These bacteriologists succeeded in making rabbits immune against tetanus and diphtheria. They found that the serum of a diphtheria-immune rabbit (to confine our attention to one of these diseases) exerts *no* bactericidal action on the diphtheria bacillus. *It possesses, however, the remarkable power of destroying the poison produced by this microbe.* In this *antitoxic* power of such serum we at once see a possibility of curing tetanus and diphtheria (for the above statements hold good for both diseases), and, as a matter of fact, it has been found possible to cure either disease in mice and guinea pigs. Indeed Behring has cured mice of tetanus in which the disease had so far progressed that several of the limbs were in a condition of spasm. Gamaleia has obtained results with the poison of the *Vibrio Metchnikovi* which go to confirm these of Behring and Kitasato. He found that this poison is destroyed by the blood serum of the rabbit, but not by that of the guinea-pig; these animals being by nature respectively refractory and susceptible to the attacks of this microbe. Thus we see that the discovery of the bacteria-killing power of blood serum, besides suggesting a new direction in which practical results may be expected, leads us to a new theory of immunity which may be stated as follows:—

“Immunity, whether natural or acquired, is due to the presence of substances which are formed by the metabolism of the animals rather than by that of the microbe, and which have the power of

destroying either the microbe, against which immunity is possessed, or the products on which their pathogenic action depends."

It may be noted that this theory, as I have stated it, does not attempt to exclude other factors. It is possible, or, indeed, probable, that in some animals immunity against some diseases depends, either wholly or in part, on other causes.

The question now arises, what is the nature of the substances on which this baetericidal action of blood serum depends?

Buchner* attempted an answer to this question two years ago when he first attacked the subject. He carefully tested the action of each one of the known constituents of blood serum on bacteria. Not one of them showed the slightest baetericidal action. He successively showed that the baeteria-killing action of blood serum could not be ascribed to salts present, to traces of fibrin factors, or to the other proteids of serum. Consequently he arrived at the somewhat curious conclusion that this power of destroying microbes possessed by blood serum was due to a remnant of the "vitality" that had been possessed by the blood-plasma from which the serum was derived.

It is difficult to see in what sense of the word such a statement is an *explanation* of the baeteria-killing power of blood serum, and when I first read it I was at once reminded of Professor Huxley's comparison of "vitality" with the idea of Martinus Scriblerus, who explained the operation of the meat-jack by its inherent meat-roasting power, and scorned the materialism of those who sought to explain its action by some hidden mechanism in the chimney.

Another possibility existed, namely, that Buehner had overlooked some constituent of blood serum, and that to this unknown constituent the baeteria-killing power of blood serum was due.

It would lead me too far for me to attempt to detail the theoretical considerations that led me to suspect that a particuar ferment-like proteid known as eell globulin B was the substance in question. At any rate I tested its action on anthrax bacilli and found that it possesses the power of destroying these microbes.

I further found that similar substances were present, not only in animals that are naturally immune against anthrax, but also in those that are susceptible to this disease. To those substances I have given the name of *defensive proteids*. In my published papers on this subject I have noted various similarities in the baetericidal action of these substances and that possessed by blood serum, and these resemblances are such as to leave little room for doubt that the bactericidal action of blood serum is due to the presence of these defensive proteids.†

* Loc. cit.

† "A Bacteria-killing Globulin." Proceedings of the Royal Society of London, Vol. 48, p. 93, May 1890.

"On the Conflict between the Organism and the Microbe."—British Medical Journal, July 12, 1890, and

"Ueber den schützenden Eiweisskörper der Ratte."—Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Vol. IX., March 1891, p. 336, and p. 372.

It is obvious that the mere presence of these bodies in the animal organism does not compel us to regard them as a means of resistance to microbe invasion. Before we can regard them as a real factor in the production of immunity, it must be shown that the defensive proteid of a refractory animal is more active, or is present in a larger quantity than is the case with an animal that is susceptible to a given disease. This very necessary proof I sought to obtain by a study of the defensive proteid of the rat. This animal is known to be highly resistant to anthrax. Behring*, in 1888, showed that its serum is more alkaline than that of any other animal that he examined, further that it has the power of killing anthrax bacilli, which power is lost when the serum is neutralised. He came to the conclusion that the immunity of the rat to anthrax is due to this high alkalinity of its serum, but was unable to isolate the alkaline substance involved. Naturally, my work on defensive proteids enabled me to attack this question from a more favourable standpoint, and I soon found that this serum contained a proteid body possessing a well-marked alkaline reaction, and a power of destroying anthrax bacilli. Further, when injected into mice, along with fully virulent anthrax spores, it would prevent the development of the disease. On the other hand, defensive proteids of animals susceptible to anthrax can exert no such protective power, and consequently these experiments indicate a difference in the mode of action of defensive proteids from immune and susceptible animals respectively. Further, the amount of defensive proteid present in a rat can be diminished by those causes which are known to be capable of lowering its power of resisting anthrax. For instance, Feser states, that rats become susceptible to anthrax when fed on a vegetarian diet. I have obtained similar results with wild rats. The ordinary white rat, however, I have found to be generally refractory to anthrax on any diet, and the defensive proteid can always be obtained from its spleen and blood serum. With the wild rat this is not the case. In one experiment eight wild rats were used. Of these four were fed on bread and meat, the others on plain bread, for about six weeks. Then one rat of each lot was inoculated with anthrax. Of these the one that had been subjected to a bread diet succumbed. The remaining rats were killed, and it was found that while the spleens of the flesh-fed rats contained abundance of the defensive proteid, only traces of this substance could be obtained from the spleens of the rats that had been fed on bread alone. A similar result was obtained in other experiments.

Very young rats are known to be susceptible to anthrax, and so far as I can judge from the litmus test (after dialysis and addition of Na. Cl.), their serum appears to contain less of the defensive proteid than does that of the adult rat. Further, I have found that a young rat can be preserved from anthrax by an injection of its parent's blood serum.

* "Ueber die Ursache der Immunität von Ratten gegen Milybrand."—Centralblatt für Klinische Medicin, 1888, No. 38, p. 1.

These facts appear to me to prove that the defensive proteid of the rat deserves its name in that it tends to preserve it from the attack of the anthrax microbe; in other words, that this substance is at any rate a part cause of its immunity against anthrax.

Ogata,* Tizzoni, and Cattani† have recently made some interesting additions to our knowledge of defensive proteids. Ogata has, by methods very similar to those which I have employed, extracted a bacteria-killing substance from blood serum of various animals. The low temperature at which it is destroyed, and its solubility in 50 per cent. glycerine, have led him to the idea that it is a ferment. He shows, however, that it possesses no diastatic or peptonising power. Tizzoni and Cattani have similarly come to the conclusion that the "anti-toxic" substance present in the serum of a dog that has been made immune against tetanus, is a proteid body allied to ferments. So far as I know, these are the only workers besides myself who have yet published papers dealing with this subject. Wooldridge,‡ in his well-known experiments on anthrax immunity produced by tissue fibrinogens, may (as I have elsewhere suggested) have been working with a solution containing a defensive proteid, but this idea of a bacteria-killing substance seems neither to have directed his work or to have been clearly deducible from his results.

Since the publication of my work on defensive proteids, Buchner has abandoned his view that the bacteria-killing power of blood serum is due to a remnant of vitality, and in a paper recently published§ he admits the importance of defensive proteids, and suggests for them the name "alexine." Certainly if it were necessary to re-christen "defensive proteids," this name would be very appropriate. As defensive proteids have, however, succeeded in surviving for a year and a half under this title, I feel inclined to claim the discoverer's privilege and ask that they may continue to exist under their original denomination. It would, however, be convenient to form names for the different classes of defensive proteids, and I do not think it would be premature to do so now. Defensive proteids appear to be ferment-like, albuminous bodies, and it is extremely unlikely that we shall for a considerable time be able to classify them by any other than physiological tests. From this point of view it is possible to divide them into two classes; first, those occurring naturally in normal animals, and secondly those occurring in animals that have artificially been made immune. For these two classes I propose the names of *sozins* and *phylaxins*. A "sozin" is a defensive proteid that occurs naturally in a normal animal. They have been found in all animals yet examined,

* "Ueber die bakterienfeindliche Substanz des Blutes."—Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Vol IX., May 1891, p. 597.

† "Ueber die Eigenschaften des Tetanus Antitoxins."—Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Vol. IX., May 1891, p. 685.

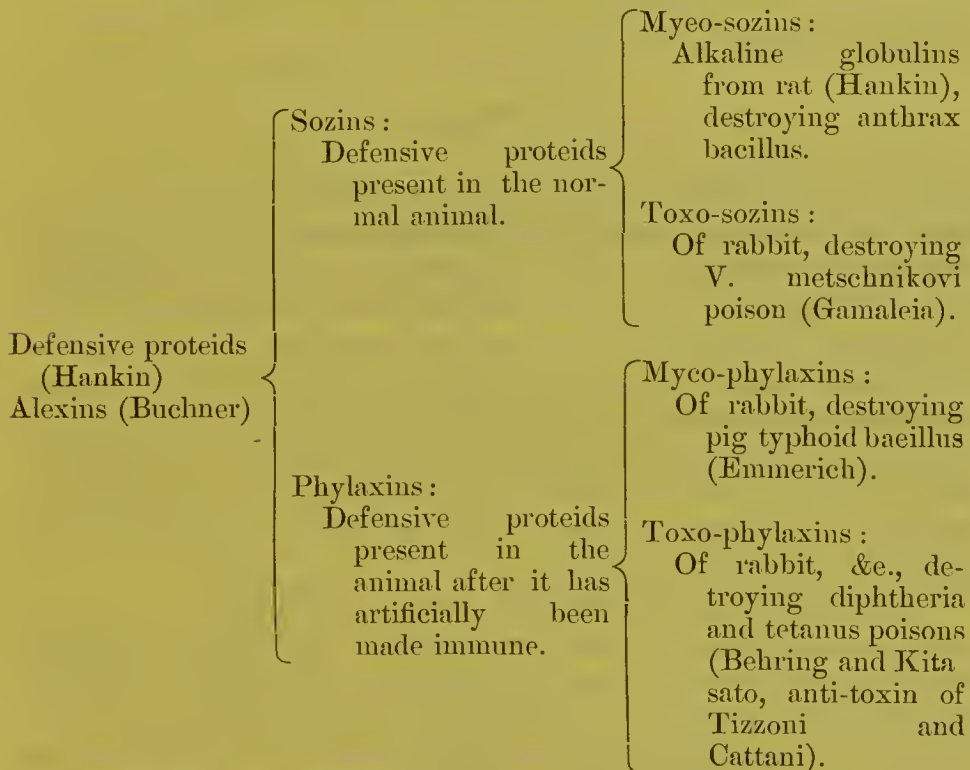
‡ "Versuche über Schutzimpfung auf chemischem Wege." Archiv für Anatomie und Physiologie.—Physiologische Abtheilung, Vol. III., 1888, p. 527.

§ "Kurze Uebersicht über die Entwicklung der Bakterienforschung seit Nägeli's Eingreifen in dieselbe."—Münchener medicinische Wochenschrift, No. 25, 23 June 1891, p. 435, and No. 26, p. 454.

and appear to act on numerous kinds of microbes or on their products. A "phylaxin" is a defensive proteid which is only found in an animal that has been artificially made immune against a disease, and which (so far as is yet known) only acts on one kind of microbe or on its products.

Each of these classes of defensive proteids can obviously be further subdivided into those that act on the microbe itself and those that act on the poisons it generates. These sub-classes I propose to denote by adding the prefixes myeo- and toxo- to the class name. Thus, myeo-sozins are defensive proteids occurring in the normal animal, which have the power of acting on various species of microbe. Toxo-sozins are defensive proteids also occurring in the normal animal, having the power of destroying the poisons produced by various microbes. Myco-phylaxins and toxo-phylaxins similarly will denote the two sub-classes of the phylaxin group.

The classification may be represented by the following scheme :—*



When first the baeterieidal action of blood-serum was worked out, it was supposed that a serious blow had been struck at the phagocyte theory. The discovery of defensive proteids shows, however, that this is by no means necessarily the case. I first obtained defensive proteids

* The derivation of these words is as follows :—

Alexin from ἀλέξω = to defend.

Sozin „ σώζω = to save alive, to preserve.

Phylaxin „ φύλαξ = a protector; φυλάττω, φυλάξω = to guard.

Toxo- „ τοξικός (from τόξον) = poison (for arrows).

Myco- „ μύκης = fungus (cf. schizomyces).

I have to thank Dr. Donald Macalister for his kind assistance in helping me to coin these names.

from the spleen and lymphatic glands of various animals. That is to say, they were obtained from cells which are potentially phagocytes. It is possible that they are the weapons used by phagocytes in their conflict with the microbes, and that only after the death of the cells do these substances find their way into the blood-serum. Though it may be held probable for phylaxins, there is as yet no formal proof that sozins are present in the living blood plasma. The fact that sozins are present in the serum no more proves their presence in normal blood plasma than does the presence of the allied body, fibrin-ferment in the one prove its presence in the other.



Die künstliche Erzeugung von Immunität gegen croupöse Pneumonie, und die Heilung dieser Krankheit.

VON

Prof. Dr. RUDOLF EMMERICH und Dr. ALEXANDER FAWITZKY.



Durch Emmerichs Untersuchungen über "die Ursache der Immunität und die Heilung von Infectionskrankheiten,"* wurde festgestellt, dass die Ursache der künstlichen Immunität in einen antibacteriellen, für die Körperzellen aber ganz unsehädlichen Toxin besteht. Dieser die Bakterien tödtende Stoff kann von der ersten Schutzimpfung her im Körper sein. Es ist aber auch möglich, dass derselbe erst von den, durch die neuerdings erfolgte Bakterieninvasion gereizten Körperzellen gebildet wird, oder aber er kann eine lösliche, ehemische Verbindung sein, die sich durch die wechselseitige Einwirkung der eigenthümlich modificirten Zersetzungsproducte der Körperzellen und der Stoffwechselproducte der Bakterien bildet.

Das hervorragende pathologisch-anatomische Phänomen bei allen Infectionskrankheiten ist die parenchymatöse Schwellung und fettige Degeneration. Bei der ersteren füllen sich die Zellen mit eiweissartigem Material, welches zersetzt und theilweise in Fett übergeführt wird. Es ist sehr wahrscheinlich, dass bei dieser, fast alle Zelleomplexe des Organismus betreffenden abnormalen Modification der Zellthätigkeit, welche sich in so augenfälliger Weise pathologisch-histologisch documentirt, jene Körper gebildet werden, welche als Baeteriengifte wirken und die Immunität bedingen. Diese Baeteriengifte sind also möglicherweise intermediäre Stoffwechselproducte, welche beim Uebergang von Eiweiss in Fett entstehen. Nach der Erkenntniss dieser Vorgänge war es in hohem Grade wahrscheinlich, dass das Blut und der Gewebssaft immunisirter Thiere, welcher so energisch wirkende antibacterielle Stoffe enthält, auch bei der zum Ausbruch gekommenen Infectionskrankheit als Heilmittel wirken müsse, wenn man ihn subcutan, intraabdominell oder

* Archiv für Hygiene. Band XII.

intravenös dem erkrankten Organismus einverleibt. Diese Schlussfolgerung hat sich bis jetzt bei zwei Infectiouskrankheiten: beim Rothlauf der Schweine und bei der durch den *Diploeoccus pneumoniae* (Fränkel) verursachten croupösen Pneumonie, als vollkommen richtig erwiesen.

DER ROTHLAUF UND DIE PNEUMONIE SIND HEILBAR, sie können durch die Injection des Blutes und des Gewebssaftes künstlich immunisirter Kaninchen coupirt werden. *Ja man kann sogar den Ausbruch dieser Krankheiten ganz verhindern, wenn man den Thieren kurze Zeit nach der Infection mit Reinculturen der betreffenden pathogenen Bacterien den Gewebssaft künstlich immunisirter Thiere einverleibt.*

Der Gewebssaft und das Blut der künstlich immunisirten Kaninchen entfalten aber eine sehr verschiedene Wirksamkeit, je nach der Methode, welche zur Immunisirung angewendet wurde.

Immunisirt man die Kaninchen durch *subcutane Injection abgeschwächter Culturen*, so erhält man eine *unvollständige Immunität* und der aus den immunisirten Thieren hergestellte Gewebssaft besitzt *nicht* die volle und grösstmögliche Heilwirkung.

Durch *Schutzimpfung* mittelst *intravenöser Injection hochgradig verdünnter, VOLLVIRULENTER Cultur* erhält man dagegen, wenn man successive immer grössere Mengen der vollvirulenten Cultur und zwar späterhin auch unverdünnt zur Schutzimpfung benützt, *complete Immunität* und einen *Gewebssaft von ganz eminenter*, man kann fast sagen, *von idealer Heilkraft*.*

Um dies zu beweisen, führen wir einige Immunisirungs- und Heilversuche an, welche den Unterschied der Wirksamkeit dieser beiden verschiedenen Immunisirungsmethoden, sowie den Unterschied in der Heilwirkung des aus den immunisirten Thieren gewonnenen Gewebssaftes klar erkennen lassen.

I.—Erzeugung von Immunität gegen croupöse Pneumonie durch *subcutane Injection abgeschwächter Culturen* von *Diplococci*.

Kaninchen No. 1.

Datum.	Zur Schutzimpfung verwendete Bouillon-cultur von Diplococcen.	Körpergewicht.	Körpertemperatur	Bemerkungen.
		des Kaninchens.		
23. Februar	7 cem. stark abgeschwächter Cultur subcutan.	1,170 gr.	Morgens vor der Injection 39·8° C. Abends 39·8	Frisst wenig.
24. Februar	1 cem. derselben Cultur subcutan.	—	Abends 39·8	
25. Februar	—	—	normal	

* Ueber die zahlreichen diesbezüglichen Versuche und die beste Methode der Schutzimpfung und Immunisirung wird Dr. Fawitzky in einer besonderen Abhandlung (im Archiv für Hygiene) ausführlichen Bericht erstatten.

Datum.	Zur Schutzimpfung verwendete Bouillon- cultur von Diplococcen.	Körper- gewicht.	Körpertemperatur.		Bemerkungen.
		des Kaninchens.			
2. März	$\frac{1}{2}$ ccm. einer etwas virulenteren Cultur subcutan (d. h. vorige Cultur durch eine Maus geführt).	—	Morgens vor der Injection	39·3	
			Abends	39·9	
3. März	—	—		normal	
5. März	1 ccm. derselben Cultur subcutan.	—	Keine Temperaturer- höhung.		
10. März	—	1,410 gr.		normal	
11. März	4 ccm. derselben Cultur subcutan.	—	Morgens	normal	
			Abends	39·6	
13. März	5 ccm. derselben Cultur subcutan.	—	Morgens vor der In- jection	38·8	Weniger lebhaft ; frisst wenig.
			Abends	39·9	
14. März	—	—		39·8	
15. März	—	—		40·0	
16. März	—	—		39·9	
17. März	—	1,520 gr.		38·9	Ganz wohl ; frisst viel.
24. März	—	1,550 gr.			
26. März	2 ccm. einer fast vollvirulenten Cul- tur subcutan.	—	Morgens vor der In- jection	38·8	
			Abends	39·8	
27. März	—	1,470 gr.	Morgens	39·9	Weniger lebhaft.
			Abends	40·1	
28. März	—	1,420 gr.	Morgens	40·7	Frisst wenig.
			Abends	40·9	
29. März	—	1,420 gr.	Morgens	40·0	
			Abends	39·0	
31. März	0·3 ccm. wenig vi- rulenter, aber direct aus mit Sputum infectirtem Kanin- chen gewonnener Cultur subcutan.	—	Morgens vor der Injection	38·9	Ein Controlthier erhielt 1 ccm. derselben Cul- tur subcutan und blieb am Leben.
			Abends	40·9	
1. April	—	1,457 gr.	Morgens	39·8	
			Abends	39·4	
2. April	0·5 ccm. derselben Cultur subcutan.	1,520 gr.	Morgens vor der Injection	39·5	
			Abends	39·8	
3. April	—	—		normal	
5. April	—	1,500 gr.		normal	
11. April	—	1,720 gr.		normal	
13. April	1 ccm. vollvirulenter kurz vorher aus mit Sputum infectirtem Kaninchen gewon- nener Cultur in die Bauchhöhle.	1,770 gr.	Morgens vor der Injection	39·0	Controlthier stirbt 2 Tage nach Injection von 1 ccm. derselben Cultur in die Bauch- höhle.
			Abends	39·3	
15. April	—	1,550 gr.		normal	
17. April	—	1,480 gr.		normal	
20. April	—	1,450 gr.		normal	
24. April	1·2 ccm. derselben Cultur in die Bauchhöhle.	1,370 gr.	Kein Fieber 39·2		Controlthier stirbt bei gleicher Infection am folgenden Tage. Das Kaninchen wird 28 Stunden nach der letzten Impfung ge- tödtet und zur Gewinnung von Blut und Gewebssaft ver- werthet. Keine Diplococcen in Blut, Milz, Leber, etc. etc.
24. April					

Kaninchen No. II.

Datum.	Zur Schutzimpfung verwendete Bouillon- cultur von Diplococcon.	Körper- gewicht.	Körpertemperatur.		Bemerkungen.
		des Kaninchens.			
23. Februar	7 ccm. stark abge- schwächter Cultur subcutan (wie bei Kaninchen No. I.).	1,265 gr.	Morgens vor der Injection	38° 9' C.	
			Abends	39° 5'	
24. Februar	1 ccm. derselben Cul- tur subcutan (wie No. I.).	—	Morgens	39° 4'	
			Abends	39° 6'	
25. Februar	—	—	Morgens	39° 8'	
			Abends	39° 9'	
26. Februar	1 ccm. derselben Cul- tur subcutan (wie No. I.).	1,160 gr.	Morgens vor der Injection	39° 6'	
			Abends	40° 0'	
27. Februar	—	—	Morgens	39° 9'	
			Abends	39° 8'	
28. Februar	—	—		39° 3'	
2. März	$\frac{1}{2}$ ccm. derselben vorher durch eine Maus geführten, also etwas virulen- teren Cultur sub- cutan (wie bei No. I.).	—		normal	
5. März	4 ccm. derselben Cul- tur subcutan (wie bei No. I.).	—	Morgens	39° 2'	
			Abends	39° 9'	
6. März	—	—		normal	
10. März	—	1,410 gr.			
11. März	4 ccm. derselben Cul- tur subcutan.		Morgens	39° 2'	
				39° 9'	
13. März	—	1,490 gr.		normal	
14. März	—	—		normal	
16. März	10 ccm. derselben Cul- tur subcutan.	—	Morgens	38° 9'	
			Abends	40° 1'	
17. März	—	—		39° 5'	
18. März	—	—		38° 9'	
24. März	—	1,770 gr.		normal	
26. März	4 ccm. einer fast vollvirulenten Cul- tur subcutan (wie bei No. I.).		Morgens vor der Injection	38° 9'	
			Abends	39° 8'	
27. März	—	1,637 gr.	Morgens	40° 0'	
			Abends	40° 8'	
28. März	—	—	Morgens	40° 5'	
			Abends	40° 1'	
29. März	—	1,635 gr.		39° 4'	Frisst viel; gesund.
31. März	0·5 ccm. wenig viru- lenter, aber direct aus mit Sputum infectirtem Kanin- chen gewonnener Cultur subcutan.	—		normal	Cultur frisch, aber aus unbekannten Gründen wenig virulent.
1. April	—	1,680 gr.		normal	
2. April	0·3 ccm. derselben Cultur in die Bauch- höhle injicirt.	1,730 gr.	Morgens vor der In- jection	normal	
			Abends	39° 6'	
3. April	—	—		39° 1'	
5. April	—	1,780 gr.		normal	Kaninchen lebhaft; frisst viel.
11. April	—	1,870 gr.		normal	
13. April	0·5 ccm. vollviru- lenter Cultur in die Bauchhöhle.	1,910 gr.	Morgens vor der Injection	39° 0'	Controlkaninchen stirbt 2 Tage nach Injection von 1 ccm. derselben Cultur in die Bauchhöhle.
			Abends	39° 4'	
15. April	—	1,930 gr.		normal	
17. April	—	1,960 gr.		normal	

Datum.	Zur Schutzimpfung verwendete Bouillon-cultur von Diplococcen.	Körper-gewicht.	Körpertemperatur.	Bemerkungen.
		des Kaninchens.		
20. April	1·2 cem. derselben vollvirulenten Cultur in die Bauchhöhle injicirt.	2,100 gr.	Morgens vor der Injection 38·7 Abends 39·5	Controlthier stirbt bei gleichen Infection am folgenden Tage.
21. April	—	—	Morgens 39·5 Abends 39·9	
24. April	1 cem. vollvirulenter Cultur in die Bauchhöhle injicirt.	2,020 gr.	Morgens vor der Injection 39·0 Abends 39·1	
25. April			Am 25. April 28 Stunden nach der letzten Schutzimpfung getödtet und zur Gewinnung von Blut und Gewebssaft mit dem Kaninchen No. I. verarbeitet. Keine Diplococcen in Blut Leber, Milz, etc. etc.	

Die immunisirten Kaninchen No. I. und II. wurden am 25 April getödtet, dann sofort enthäutet, zerstückt und Fleisch und Organe durch eine Fleischschneidmaschine getrieben. Der Fleischbrei wurde hierauf in ein gut ausgewaschenes Tuch eingebunden und bei einem Druck von 300 Atmosphären ausgepresst. (Auf die Reinheit des Tuches, der Presse etc., ist besonders zu achten, da z. B. das Auspressen durch ein Tuch, dessen Appretur nicht vollständig ausgewaschen ist, den Gewebssaft unwirksam machen könnte.) Die blutig gefärbte Flüssigkeit wurde schliesslich nach 12 stündigem Stehen im Eisschrank (bei + 1° C.) durch ein sterilisirtes Chamberland'sches Filter filtrirt und das klare, schwach roth gefärbte völlig klare Filtrat in einem sterilisirten Pasteur'schen Kölbchen aufgefangen und bis zum Gebrauch im Eisschrank aufbewahrt.

Der vereinigte Gewebssaft von beiden Thieren, den wir kurzweg als "Heilsaft" oder "Heilflüssigkeit" bezeichnen, wurde zu folgenden Heilversuchen verwendet.

II. Heilwirkung des Gewebssaftes von Kaninchen, welche durch *subcutane* Injection *abgeschwächter* Culturen immunisirt wurden.

Heilgeimpftes Kaninchen No. III.

Datum.	Menge der zur Infection verwendeten Bouilloncultur von Diplococcen.	Menge des injicirten Heilsaftes.	Körper-gewicht.	Körper-temperatur.	Bemerkungen.
28. April	1·2 cem. vollvirulenter Cultur in die Bauchhöhle 12½ Uhr Nachmittags.	Gleichzeitig mit der Infection 14 cem. Heilsafts in die Bauchhöhle 12½ Uhr.	1,500 gr.	Vor der Injection 39·2	Das Thier starb in der Nacht vom 30 April auf 1. Mai nach Mitternacht. Diplococcen im Blut und Organen.
29. April	—	—	—	Morgens Mittags Abends	40·2 40·3 40·4
30. April	—	—			

Heilgeimpftes Kaninchen No. IV.

Datum.	Menge der zur Infection verwendeten Bouilloneultur von Diplococcen.	Menge des injicirten Heilsaftes.	Körpergewicht.	Körpertemperatur.	Bemerkungen.
28. April	1·2 cem. vollvirulenter Cultur in die Bauchhöhle 1 Uhr Nachmittags.	20 cem. Heilsaft in die Bauchhöhle gleichzeitig mit der Infection und um 5 Uhr Abends noch 2 cem. Heilsaft in eine Ohrvene.	1,510 gr.	Vor der Injection 39·3 Nachmittags 3 Uhr. 39·4 Abends 6 Uhr 39·3 Nachts 9 Uhr 39·3	
29. April	—	—	—	Vormittags 7 Uhr 38·4	Nachmittags 3 Uhr stirbt das Thier. Diplococcen im Blut und in den Organen.

Controlkaninchen No. V. (ad Kaninchen III. und IV.)

Datum.	Menge der verimpften Bouilloneultur von Diplococcen.	Menge des injicirten Heilsaftes.	Körpergewicht.	Körpertemperatur.	Bemerkungen.
28. April	1·2 cem. vollvirulenter Cultur in die Bauchhöhle 1 Uhr. Nachmittags.	0	1,500 gr.	Vor der Injection 38·8 Nachmittags 3 Uhr 38·7 Abends 6 Uhr 39·1 Nachts 9 Uhr 39·8	
29. April					Das Thier stirbt Morgens 7 Uhr. Im Blut und Organen massenhaft Diplococcen.

Die Heilwirkung war bei diesen beiden Kaninehen III. und IV., eine geringe, aber doch unverkennbare, namentlich bei Kaninehen III., welches das Controlthier nahezu 24 Stunden überlebte. Allerdings war auch die zur Infection verwendete Menge von Diplococceen eine sehr bedeutende.

Die Ursache der geringen Heilwirkung muss, wie aus dem Folgenden hervorgeht, in der Art (Methode) der Immunisirung gesucht werden. Bei der Schutzimpfung vermittelt subcutaner Injection abgeschwächter Culturen erreicht die Immunität niemals den vollen (grösstmöglichen) Grad, und dementsprechend besitzt auch der aus den nicht complet, sondern nur relativ immunen Thieren gewonnene Gewebssaft nur geringe Heilwirkung.*

* Es ist übrigens zu bemerken, dass sich auch auf diesem Wege vollständige Immunität erzielen lässt, wenn man schliesslich öfters wiederholte subcutane und intravenöse Injectionen von vollvirulenten Culturen macht und zuletzt Mengen von mindestens 5 cem. Bouilloneultur anwendet. (Cf. p. 7, Kaninchen No. XI.)

III.—Vernichtung der Heilwirkung des Gewebssaftes immunisirter Kaninchen durch beginnende Fäulniss.

Die im Gewebssaft immunisirter Kaninchen gelösten, heilenden Stoffe stellen offenbar sehr leicht zersetzliche chemische Körper dar, da sogar schon beginnende, resp. kurz dauernde Fäulniss die Heilwirkung des Saftes vollkommen zerstört.

Als Beweis für diese Thatsache können die folgenden Versuche dienen, bei welchen der spätere Theil des Filtrates von dem vereinigten Gewebssaft der Kaninchen III. und IV. angewendet wurde. Bei Beendigung der Filtration war in dem noch nicht filtrirten Theil des Gewebssaftes ein schwacher Fäulniss Geruch wahrnehmbar.

Heilgeimpftes Kaninchen No. VI.

Datum.	Menge der verimpften Bouilloncultur von Diplococcen.	Menge des injicirten Heilsaftes.	Körpergewicht.	Körpertemperatur.	Bemerkungen.
1. Mai	1·4 cem. vollvirulenter Cultur subcutan.	21 cem. gelben klaren Heilsaftes subcutan um 12 Uhr Mittags.	1,950 gr.	Vor der Injection 39·0 Nachmittags 3 Uhr 38·1 Abends 6 Uhr 38·0	Collaps. Tod während der Nacht. Hämorrhagisches Exsudat im Bindegewebe der ganzen Bauchfläche. Diplococcen in Blut und Organen.

Heilgeimpftes Kaninchen No. VII.

Datum.	Menge der verimpften Bouilloncultur von Diplococcen.	Menge des injicirten Heilsaftes.	Körpergewicht.	Körpertemperatur.	Bemerkungen.
1. Mai	1·4 cem. derselben Cultur wie bei VI. subcutan 12 Uhr Mittags.	20 cem. derselben Gewebssaftes wie bei VI. subcutan 12 Uhr Mittags.	1,720 gr.	Vor der Injection 39·1 Nachmittags 3 Uhr 39·9 Abends 6 Uhr 40·1	Das Thier stirbt in der Nacht. Weitverbreitetes Exsudat in der Bauchdecke. Diplococcen in Blut und Organen.

Controlkaninchen No. VIII. (ad VI. and VII.)

Datum.	Menge der verimpften Bouilloncultur von Diplococcen.	Menge des injicirten Heilsaftes.	Körpergewicht.	Körpertemperatur.	Bemerkungen.
1. Mai	Wie bei Kaninchen VI. und VII.	0	2,020 gr.	Vor der Injection 39·0 Nachmittags 3 Uhr 39·6 Abends 6 Uhr 39·9	Todt während der Nacht. Gleicher Befund wie bei Kaninchen VI. und VII.

IV.—Erzeugung von *completer* Immunität gegen eitrige Pneumonie durch *intravenöse* Injection *stark verdünnter*, vollvirulenter Culturen von Diplococcen.

Kaninchen No. IX.

(Immunisirung.)

Datum.	Zur Schutzimpfung verwendete Bouillon-cultur von Diplococcen.	Körpergewicht.	Körpertemperatur.		Bemerkungen.
6. Mai	0·4 ccm. einer um das 25 fache mit destillirtem Wasser verdünnten vollvirulenten Cultur in die Ohrvene injicirt um $\frac{1}{2}$ 12 Uhr Vormittags.	2,825 gr.	Vor der Injection 39·5		
7. Mai	—	—	Morgens Abends	39·8 40·0	Kaninchen frisst wenig und ist sichtlich krank.
8. Mai	—	—	Morgens Abends	40·9 41·2	Das Thier sitzt ruhig, frisst wenig, sehr krank.
9. Mai	—	—	Morgens Abends	40·5 40·3	Stat. id.
10. Mai	—	—	Morgens Abends	40·3 40·5	Stat. id.
11. Mai	—	—	Morgens Abends	40·4 40·8	Stat. id.
12. Mai	—	—	Morgens Abends	40·2 40·3	Das Kaninchen wieder lebhafter, frisst etwas mehr.
13. Mai	—	—		40·4	
14. Mai	—	—		40·0	
15. Mai	—	—		40·4	Stat. id.
16. Mai	—	—		40·0	Das Kaninchen scheint wieder ganz gesund zu sein.
17. Mai	—	—		39·9	Stat. id.
18. Mai	—	—		38·9	Stat. id.
19. Mai	—	—		39·7	Stat. id.
20. Mai	—	—		39·4	Thier ganz normal, frisst viel.
29. Mai	4 ccm. vollvirulenter Bouilloneultur subcutan.	2,700 gr.	Vor der Injection 39·3		
30. Mai	—	—	Morgens	39·9	
31. Mai	—	—		40·0	
1. Juni	—	—		40·1	
2. Juni	—	—		40·4	
3. Juni	—	—		40·2	
4. Juni	—	—		0·0	
5. Juni	—	—		39·4	
6. Juni	—	—		39·5	
6.-9. Juni	—	—		normal	
9. Juni	—	—		39·9	
10. Juni	—	—		40·0	
11. Juni	—	—	Morgens Abends	39·9 40·2	
12. Juni	—	—	Morgens Abends	39·7 39·5	
13. Juni	—	—		39·3	Die Körpertemperatur bleibt bis zum 24. Juni normal.

Datum.	Zur Schutzimpfung verwendete Bouillon-cultur von Diplococcen.	Körper-gewicht.	Körpertemperatur.	Bemerkungen.
24. Juni	8 cem. vollvirulenter Bouillon-cultur subcutan.	2,720 gr.	Vor der Injection 39°5	
25. Juni	—	—	39°7	
26. Juni	—	—	39°8	Das Kaninchen zeigt keine Krankheitser-schnugen.
27. Juni	—	—	39°6	
28. Juni	—	—	39°6	
30. Juni	—	—	39°6	
1. Juli	10 cem. vollvirulenter Cultur subcutan.	2,600 gr.	39°2	Thier frisst viel.
2. Juli	—	—	39°6	
3. Juli	—	—	39°5	
				Das Kaninchen wird um 3 Uhr Morgens getödtet und zur Heilsaftgewinnung verwerthet. In den Organen noch mäs-sig zahlreich Diplo-coccen.

Aus Blut, Fleisch und Organen dieses Thieres wird in der schon erwähnten Weise Heilsaft bereitet. Derselbe zeigt sehr energische Heilwirkung, obgleich in den Organen noch Diplococcen in geringer zahl in entwicklungsfähigem zustand (Bouilloneultur) vorhanden waren.

V.—Vollständige Heilwirkung des Gewebssaftes, weleher aus dem, durch intravenöse Injection kleiner Mengen vollvirulenter Cultur immunisirten Kaninehen No. IX., gewonnen wurde.

Controlkaninchen No. X.

(Infection durch Inhalation zerstäubter Bouilloneultur von Diplococcen.)

Datum.	Menge der zur Infec-tion verwendeten Bouillon-cultur von Diplococcen.	Körper-gewicht.	Körpertemperatur.	Bemerkungen.
4. Juli	Das Thier inhalirt gemeinschaftlich mit Kaninchen XI. im gleichen Apparat 2½ Stunden hindurch zerstäubte, vollvirulente Diplo-coccen - Bouillon-cultur.	3,375 gr.	Vor der Inhala-tion 38°8	Die Inhalation fand von 9 bis 11½ Uhr Vormittags statt.
5. Juli	—	—	39°0	
6. Juli	—	—	Morgens 39°4 Abends 39°4	Das Thier frisst wenig.
7. Juli	—	—	Morgens 41°4 Abends 41°3	
				Thier sehr krank, nimmt kein Futter, eitriger Ausfluss aus der Nase; Abends somnolent.

Das Kaninchen No. X., stirbt am 7 Juli Naechts 9 Uhr. Diplococcen im Blute und in den Organen in grossen Massen.

Heilgeimpftes Kaninchen No. XI.

(Infection durch zerstäubte Bouillon-Culturen von Diplococcen, welche das Thier mit Controlkaninchen No. X. im gleichen Behälter sitzend inhalirt.)

Datum.	Menge der zur Infection verwendeten Bouillonculturen von Diplococcen.	Menge des zur Heilimpfung verwendeten Gewebssaftes vom immunisirten Kaninchen IX.	Körpergewicht.	Körpertemperatur.	Bemerkungen.
4. Juli	Inhalation von vollvirulenten Diplococcen im gleichen Behälter mit Controlkaninchen No. X. 2½ Stunden lang.	28 cem. des ganz frischen Gewebssaftes von Kaninchen IX. (welcher hauptsächlich aus Blut und inneren Organen gewonnen wurde) subcutan um 4 Uhr Nachmittags (4 Stunden nach der Inhalation). Abends 6 Uhr nochmals 12 cem. dieses Saftes subcutan.	2,820 gr.	Vor der Inhalation 38°9	Das Gewicht dieses Thieres ist um 555 gr. geringer als das des Controlkaninchens No. X.
5. Juli	—	—	—	Morgens 39°0	Thier ganz gesund, frisst viel. Stat. id.
6. Juli	—	—	—	Morgens 38°9 Abends 39°0	
7. Juli	—	—	—	Morgens 38°7 Abends 39°3	
8. Juli	—	—	2,980 gr.	Morgens 38°8 Abends 38°7	
9. Juli	—	—	—	39°0	
10. Juli	—	—	—	38°9	Thier vollkommen gesund.
11. Juli	—	—	—	38°8	
12. Juli	—	—	—		

Das Kaninchen No. XI., welches wesentlich schwächer war als das Controlthier, erkrankte also überhaupt nicht. Man könnte denken, dass es sich hier um eine natürliche Immunität gegen Pneumonie, nicht aber um Heilung durch den Gewebssaft gehandelt hat. Dass dem nicht so ist, geht aus folgenden Thatsachen hervor:—

- (1.) Versuche von Doenissen, Dr. Matter und uns, welche an mehr als 25 Kaninehen ausgeführt wurden, haben gezeigt, dass alle Kaninehen *ohne Ausnahme* an Pneumonie zu Grunde gehen, welche eine zerstäubte *vollvirulente* Diplococcen Cultur länger als 1 Stunde im Buchner'schen Apparat inhaliren.
- (2.) Dieselbe Cultur, welche die Kaninchen X. und XI. inhalirten, wurde von Dr. Doenissen zu einem Inhalationsversuch bei zwei anderen Kaninchen verwendet, von welchen das eine eine grösseres Körpergewicht hatte als Kaninchen No. XI.; beide Thiere starben am 3 Tage nach der Inhalation, obgleich sie die gleiche Cultur nur während 1 Stunde (also um 1½ Stunden kürzer) als Kaninchen XI. inhalirt hatten.

Aus diesen Thatsachen durften wir schliessen, dass es sich im vorliegenden Versuch thatsächlich um Heilung der Pneumonie, resp. Verhütung derselben durch den Gewebssaft gehandelt hat. Da nämlich bei allen 25. Versuchen, bei welchen immer je 2 Kaninchen gleichzeitig im Buchner'schen Apparat 1 Stunde lang zerstäubte Bouillon-Cultur von Diplococcen inhalirten, ausnahmslos der Tod der Thiere durch Pneumonie erfolgte, so war Wahrscheinlichkeit, dass beim 26. Versuch auch beide Thiere inficirt werden und sterben, und mit derselben Wahrscheinlichkeit (25/26) darf man schliessen, dass das eine Kaninchen, welches am Leben blieb, durch unsere Heilmethode gerettet wurde.

Die Wahrscheinlichkeit, dass das Thier durch die Injection von Gewebssaft gerettet wurde, ist also eine sehr hohe nämlich 96 Procent.

Selbstverständlich führten wir, um Gewissheit über den Erfolg der Heilmethode zu erlangen, weitere Versuche an Kaninchen und weissen Mäusen aus, und diese haben in allen Fällen, in welchen frischer, tadelloser Gewebssaft von auf geeignete Weise immunisirten Kaninchen verwendet wurde, ein positives Resultat ergeben.

Wir geben hier als Beispiel einen an 7 weissen Mäusen ausgeführten Versuch.

Am 28 Juli 3 Uhr Nachmittags wurde Maus No. I. und No. II. mit 0.3 ccm. einer Bouillon-Cultur von vollvirulenten Pneumonie-Diplococcen, welche mit der gleichen Menge sterilisirten Wassers verdünnt worden war, durch subcutane Injection inficirt. Von der gleichen verdünnten Cultur wurden Maus No. III. genau 0.35 ccm., Maus No. IV. aber 0.4 ccm., und Maus No. V. und VI. sogar 0.5 ccm. subcutan injicirt, während der Controlmaus No. VII. nur 0.3 ccm. dieser verdünnten Cultur subcutan eingespritzt wurden. Unmittelbar nach der Infection wurden Maus No. I. und II. je 1.5 ccm. frischer Gewebssaft von immunisirten Kaninchen No. XI.,* Maus III. ebensfalls 1.5 ccm., Maus No. IV. jedoch 2 ccm. und Maus V. und VI. je 2 resp. 1.5 ccm. desselben Saftes subcutan injicirt.

Am nächsten Tag (29 Juli) waren alle Mäuse gesund und lebhaft, nur die Controlmaus blieb stets ruhig am gleichen Platze sitzen. Maus No. II. erhielt nun nochmals 1.5 ccm. des gleichen Gewebssaftes subcutan und ebenso Maus No. III. 1 ccm., Maus IV. $1\frac{3}{4}$ ccm. und Maus No. V. und VI. je 2 resp. 1 ccm. Am 30 Juli wurde nur der Maus No. IV. nochmals 1 ccm. dieses Gewebssaftes injicirt.

Am Morgen des 30 Juli war die Controlmaus so krank, dass sie sich nicht mehr vom Platze bewegen konnte, und sie starb um 11 Uhr Vormittags. Im Blut und in den Organen waren massenhaft Diplococcen. Die heilgeimpften 6 Mäuse dagegen liessen auch am 30 Juli

* *Anmerkung.*—Dieses Kaninchen No. XI. hatte in Ganzen 11 subcutane Injectionen von abgeschwächten Diplococcen-Culturen behufs Schutzimpfung erhalten. Dann aber wurden dem Thier in Intervallen von 8 Tagen 2 Injectionen von je 1 ccm. vollvirulenter Bouillon-Cultur der Diplococcen in die Bauchhöhle gemacht. Schliesslich erhielt das Kaninchen eine intravenöse Injection von 0.6 ccm. derselben Cultur und dann noch 5 subcutane Injectionen von grossen Mengen (5–10 ccm.) ebenfalls vollvirulenter Cultur. Auf diese Weise wurde complete Immunität erzielt.

keinerlei Krankheitserscheinungen erkennen, sie frassen viel und waren sehr lebhaft. Auch heute am 4. August sind dieselben vollkommen gesund.

Dieser Versuch ist schlagend und lässt keinen Einwand zu, zumal wir durch viele Versuche constatirt haben, dass schon durch 0.1 cem. einer mit der gleichen Menge sterilisirten Wassers verdünnten Bouillon-Cultur vollvirulenter Pneumonie-Diplocoecen, bei subcutaner Injection Mäuse sicher getödtet werden.

Das es möglich ist, auch eine schon hochgradig entwickelte Infection durch Pneumonie-Diplococcen zu heilen, mag folgender Versuch zeigen.

Zwei Mäuse werden in gleicher Weise wie die eben erwähnten mit 0.5 cem. der gleichen verdünnten Cultur durch subcutane Injection inficirt. Eine Controlmaus erhielt nur 0.3 cem. dieser Cultur subcutan. Den beiden ersten Mäusen No. VIII. und IX. wurden 5 Stunden später je 2 cem. des beim vorigen Versuch erwähnten, aber inzwischen trüb gewordenen Gewebssaftes subcutan injicirt. Am folgenden Tag waren beide Mäuse und die Controlmaus sehr krank. Der Gewebssaft hatte sich offenbar spontan, d.h. ohne Baeterien-Entwicklung zersetzt, d.h. es hatte eine Auscheidung eines flockigen Niedersehlags (vielleicht in Folge zu starker Concentration) stattgefunden—derselbe hatte seine Heilwirkung verloren.

Nun wurde der bereits schwer erkrankten Maus No. VIII., deren Augen verklebt waren und welche wenig frass und sich nur träge bewegte, 1 cem. frischen, unveränderten Gewebssaftes von Kaninchen IX. subcutan injicirt. Die Maus erholte sich rasch (im Verlauf mehrerer Stunden) und lebt heute noch, während die beiden anderen Mäuse der Infection erlagen.

Durch diese Versuche ist festgestellt, dass die im Aufgangsstadium befindliche Infection durch Pneumonie-Diplocoecen heilbar ist.

Die Erfolge der an Thieren ausgeführten Heilversuche berechtigen uns, auch bei der Pneumonie des Menschen die neue Heilmethode zu versuchen. Selbstverständlich werden wir uns selbst vorher den Heil-saft in anfangs geringer, allmählig steigender Menge subcutan injiciren, um die Wirkung desselben beim gesunden Menschen kennen zu lernen.

Nach den Erfahrungen, welche wir bei den Thierversuchen gemacht haben, ruft derselbe keine schädliche oder gefährliche Reaction hervor, was insofern leicht erklärlich ist als der Saft aus einem völlig gesunden und normalen Thier stammt.

Wir wenden dieselben Mittel zur Heilung an, welche der vollkommen immune und gesunde Organismus zur Abwehr und Vernichtung der Krankheitserreger benützt.

Diese Heilmethode ist desshalb natürlich und rationell.



On Wooldridge's Method of producing Immunity against Anthrax by the Injection of Solutions of Tissue-fibrinogen.

BY

A. E. WRIGHT, M.D., Dublin.

According to Wooldridge (Arch. f. Anat. u. Phys., 1888) rabbits which have received an intravascular injection of a solution of tissue-fibrinogen that has been previously boiled are thereby rendered immune against anthrax. Wooldridge, however, described certain difficulties in the application of this method. He found that when "strong alkaline solutions," *i.e.*, solutions in which no coagulation occurred on boiling, were employed, the solutions did not possess any immunity-conferring power, this power having presumably been lost by the disintegrating effect of heat in the presence of free alkali. On the other hand, when the alkali of the solutions was reduced to a point which permitted of coagulation taking place on boiling the coagulation tended to become too complete, and the filtrate in consequence to become inert through being thus entirely deprived of its tissue-fibrinogen.

The purport of this communication is to make a contribution towards defining the expression "tissue-fibrinogen" in a chemical sense,* and to report the results of some experiments upon the immunity-conferring power of a solution of tissue-fibrinogen sterilised by being passed through a Chamberland's filter.

Method of preparing the tissue-fibrinogen solution.

The perfectly fresh cellular organs (testicles, thymus, &c.)† are reduced to a pulp in a mincing machine, and are extracted for some 12 hours with water, to which an addition of 1 in 200 of chloroform has been made to prevent the occurrence of any putrefactive changes. The watery extract is either filtered or centrifugalised, or simply decanted, and is then precipitated by the addition of 0.5‡ e.c. of a 33 per cent. acetic acid to every 100 e.c. of extract employed. The milky precipitate thus produced becomes in the course of a few minutes somewhat coarsely flocculent, and generally sinks to the bottom of the vessel. It is then collected upon a filter and is washed with salt-solutions of moderate strengths, and lastly with distilled water. (All these washing fluids are rendered slightly acid by the addition of a trace

* I have devoted a considerable portion of this communication to the discussion of the chemistry of the tissue-fibrinogens, because the obscurity which surrounds it appears to me to be in great part responsible for the fact that subsequent observers appear to have failed to verify Wooldridge's experiments upon immunity.

† In the experiments to be reported the fluid was always prepared from bull's testicles.

‡ The quantity employed may vary from $\frac{1}{2}$ e.c. up to 2 e.c. for every 100 e.c. of extract. When larger amounts of acid are used in the salt-free extracts the precipitate tends to re-dissolve.

of acetic acid.) The precipitate is now dissolved in a 1 per cent. solution of Na_2CO_3 , and is filtered first through an ordinary filter and afterwards through a Chamberland's filter.

Characters of this solution.

The solution thus obtained is a perfectly clear straw-yellow fluid, which gives a heavy precipitate on being slightly acidulated with acetic acid; the precipitate thus obtained is soluble, although with difficulty, in excess. When boiled the solution does not undergo any coagulation.

The fluid is characterised by the following reactions:—

(a.) It gives a marked biuret reaction at ordinary temperatures when treated with NaOH and CuSO_4 . The colour develops slowly,* and only reaches its maximum intensity in the course of one or two hours.

(b.) When poured upon the surface of strong nitric acid it gives a heavy precipitate, which is to some extent dissolved on being shaken up with the acid, a very marked xanthoproteic reaction being then produced even at ordinary temperatures. On heating the remaining precipitate is almost entirely dissolved, and on cooling the precipitate falls out again to a considerable extent.

At first sight these reactions might naturally be interpreted as indicating the presence of albumoses in solution.

The following considerations, however, will, I think, show that such a conclusion is not by any means a necessary one:—

(1.) Both the biuret and the xanthoproteic reactions merely indicate the presence of certain disintegration products of the proteins. When obtained in the usual way by the application of heat, they are rightly regarded as evidence of the presence of protein material. When obtained, however, without any such application of heat, as in the case of the biuret reaction, the only justifiable inference is that we are dealing with some relatively unstable protein substance, not necessarily with either albumoses or peptones. In point of fact the albumoses and the peptones have by no means, as seems often to be inferred, a monopoly of the colour reactions as thus produced in the cold. It has, for instance, long been known that the nucleo-albumen which can be prepared from yeast gives a biuret reaction in the cold. This indeed might have been predicted on *a priori* grounds, since this nucleo-albumen is notoriously unstable in the presence of caustic alkalies.

* That the biuret reaction obtained is a true biuret reaction, and a very distinct one, may be gathered from the following experiment. A portion of the solution is divided into two equal parts, and one of these is digested with hydrochloric acid and pepsin for 12 hours. At the end of that period it is filtered and neutralised, and its biuret reaction is compared with that of the original solution, equal portions of the fluids and of the re-agents being of course employed in each case. In the digested solution the biuret reaction develops immediately, while in the original solution it develops only slowly. At the end of two hours the reaction is almost quite as marked in the one solution as in the other. There is no difference whatever in the tint obtained.

(2.) With regard to the so-called "nitric acid test" for albumose, it is self-evident that any solution which contained a substance from which nitric acid could split off an albumose must of necessity give this reaction for albumoses in the same way as a solution in which albumoses were present pre-formed.

I believe that this is the condition of things with which we have to do in the case of our tissue-fibrinogen solution. I hope to show that this is not a solution of a free albumose, but a solution of a nucleo-albumen, which is very easily disintegrated and which yields an albumose among its disintegration products.

Evidence as to the nature of tissue-fibrinogen.

The evidence I propose to submit upon this subject may be treated of under three headings—(a) that afforded by the solubilities of tissue-fibrinogen; (b) that afforded by the behaviour of tissue-fibrinogen on being submitted to artificial peptic digestion; and (c) that derived from the behaviour of the solution on boiling and from an examination of the ash after ignition.

The solubilities of tissue-fibrinogen.

(1.) Extraction of tissue-fibrinogen from the organs.

Tissue-fibrinogen can be extracted from the cellular organs employed either by means of water or of weak (5 per cent.) NaCl solutions. With stronger salt solutions (10 per cent.) we obtain only an unworkable viscid gelatinous mass. The watery or saline extracts have a slightly alkaline reaction. They are naturally very impure solutions, and a study of them is not fitted to throw much light upon the solubilities of tissue-fibrinogen. From these impure solutions the latter can, as we have already seen, be precipitated by acidifying with dilute acetic acid.

2. Precipitation of tissue-fibrinogen from the extracts by acetic acid.

With reference to this precipitation of tissue-fibrinogen by weak acetic acid, and its bearing upon the chemical characterisation of this substance, the matter may perhaps be summed up shortly as follows:—

(a.) The precipitate is not a neutralisation precipitate of an alkali-albuminate, since the fluid must be made distinctly acid before any precipitation occurs; (b) nor is it a neutralisation precipitate of a globulin or globulin-like albumose, firstly for the reason just given, and, secondly, because globulins are soluble both in neutral salt solutions and in dilute acids and alkaline solutions, and a neutralisation precipitate of a globulin can only be formed when there is not enough neutral salt present to undertake the solution.* In the case, however, of our tissue-fibrinogen solution the same precipitation can be obtained, whether the extract be free from salt, or 5 per cent. of NaCl have been previously added. (c.) Furthermore, the precipitation cannot be considered to be

* It will be remembered that in order to obtain a neutralisation precipitate, e.g., of serum-globulin in serum, it is necessary to make its solution almost salt-free by diluting with many times its volume of water.

of the same nature as that which occurs in a solution of albumoses on acidifying strongly after the previous addition of a large quantity of NaCl. As we have just seen, the precipitation of tissue-fibrinogen succeeds best when the strength of the acetic acid does not exceed 0.2 per cent. of acetic acid. It occurs just as well in the salt-free as in the saline solutions.

3. Solubilities of the acetic acid precipitate.

The precipitate has of necessity an acid reaction from the presence of acetic acid. If, without correcting this acidity, we treat the precipitate with either distilled water or with neutral salt solutions of moderate strengths, we find that very little is taken up in solution, even after prolonged agitation in the shaking machine. The filtrates thus obtained give the merest trace of a biuret reaction.

On the other hand, if we add to our distilled water or neutral salt solutions sufficient alkali to neutralise the acid present, and to render the solution slightly alkaline, the precipitate begins to dissolve. The colour of the solution changes from a grey-white to a yellow, and the filtrate now acquires the characters described above as those of a solution of tissue-fibrinogen.

It will be seen that the practical insolubility of this precipitate in water and in salt solutions when there is even a trace of acid present, and its ready solubility when any free alkali is present, suggest that we are dealing with a nucleo-albumen rather than with a globulin or an albumose.

Effect of artificial peptic digestion on tissue-fibrinogen.

When the washed acetic acid precipitate has been dissolved in 1 per cent. of Na_2CO_3 , and has been filtered, we obtain, as has been said, a perfectly clear solution. On acidifying this solution slightly with HCl we, of course, re-precipitate the fibrinogen, but this precipitate dissolves again completely when we have brought up the strength of the acid to 0.4 per cent. of HCl.

On adding a few c.c. of Benger's *Liquor pepticus* to this clear solution, and digesting for a few hours at 37°C ., we obtain a copious precipitate of nuclein.*

Effect of boiling the solution of tissue-fibrinogen.

The solutions of tissue-fibrinogen in 1 per cent. Na_2CO_3 undergo no visible alteration on boiling, coagulation occurring usually only when the solutions contain a smaller proportion of alkali than suffices for complete solution. On cooling, after being boiled, the solution still gives, on addition of weak acetic acid, a precipitate of apparently unaltered

* Wooldridge, who describes this precipitation (Du Bois Archiv., 1888), laid particular stress upon the presence of lecithin in this precipitate. I have not examined it in this direction, but I have satisfied myself that the precipitate, after prolonged extraction with ether and alcohol, still contains phosphorus. This, therefore, brings it within the definition (a definition which is, of course, as yet a very incomplete one) of a nuclein.

tissue-fibrinogen. The filtrate obtained after removal of this precipitate is now found, however, to give a precipitate of phosphates when treated with magnesia mixture. Under the microscope this crystalline precipitate can be seen to dissolve in a trace of acetic acid. Barium chloride and ammonia and ferric chloride will also throw down a precipitate of phosphates in this filtrate, the precipitate in the latter case being, of course, soluble in an excess of the reagent.

Character of the ash yielded by tissue-fibrinogen.

In this connexion it may also be stated that when the washed acetic acid precipitate has been collected upon a filter and dried, it yields, on ignition with soda and saltpetre, an ash which, when tested with nitric acid and molybdate of ammonium, gives the characteristic yellow precipitate of phosphates.

The chemical evidence thus adduced points very distinctly, in my opinion, to tissue-fibrinogen being a member of the class of proteids described by Hammarsten under the name of nucleo-albumens.

Action of tissue-fibrinogen.

A good deal of light is further thrown upon the constitution of tissue-fibrinogen by a study of its behaviour when injected intravascularly. I am at present preparing for publication an account of the experiments which I have made in this direction. I may perhaps, however, here state the general results of those investigations as far as they have reference to the present question.

(1.) The solution of tissue-fibrinogen prepared as above will not, under ordinary circumstances, produce intravascular coagulation. It none the less contains the active principle of Wooldridge's coagulating fluid. This is evident from the fact that it produces coagulation in extravascular plasma (peptone plasma), and, moreover, it will itself produce coagulation when injected into the vessels in a more concentrated form.

(2.) The loss of the power of causing intravascular coagulation which Wooldridge noticed to be the result of boiling the solution is not a complete one. It is rather a weakening of this power, depending upon a partial disintegration of the tissue-fibrinogen. As we have seen, evidence of this disintegration was afforded by the presence of free phosphoric acid in the boiled solution. This disintegration process, however, is not complete. As noticed by Wooldridge, and repeatedly verified by myself, the boiled tissue-fibrinogen solution will, as has just been stated, still produce coagulation in peptone plasma. Furthermore, a precipitate is still produced on addition of acetic acid to the solution.

(3.) After prolonged boiling, the filtered tissue-fibrinogen solution no longer clots peptone plasma, and when injected intravascularly, instead of producing coagulation, it renders the blood permanently liquid, the plasma obtained reacting in every respect like peptone plasma.

In the light of this observation it appears to me probable that the difference in the behaviour of systemic and of portal blood in the dog

after the intravascular injection of tissue-fibrinogen solution—the latter clotting, the former remaining fluid—may best be referred to the presence of albumose in the former, which has been split off from its mother-substance, tissue-fibrinogen. I have already shown (Jr. of Phys., 1891, No. 2) that the systemic blood under such circumstances possesses the physiological properties of peptone plasma.

We have thus, from our physiological as well as from our chemical study of tissue-fibrinogen, arrived at the conclusion that tissue-fibrinogen is not an albumose, but that it is a substance which can readily be broken down into an albumose. We have, further, had chemical evidence that it belongs to the class of the nucleo-albumens. Confirmation of this last chemical conclusion from the physiological side being, however, still lacking, I endeavoured to obtain it in the following manner: I took about 500 grammes of German yeast, and prepared the nucleo-albumen from it by treating the washed yeast with 0·5 per cent. of NaOH, and filtering directly into hydrochloric acid of a strength of 1 in 1,000. On injecting a concentrated solution of the nucleo-albumen thus prepared into the jugular vein of a rabbit, I found that I obtained the most widespread intravascular* coagulation.

I think that this observation is at least a suggestive one, although on repeating the experiment a second time I did not succeed in obtaining the same striking result. I am engaged in pursuing the subject further.

Action of tissue-fibrinogen in producing immunity.

Having thus prepared the way by a study of the constitution of the tissue-fibrinogen, I may proceed to give a short account of such preliminary experiments as I have made in connexion with the production of immunity against anthrax† by means of solutions of this substance. These experiments were conducted with solutions prepared as above, and sterilised by being filtered through a Chamberland's filter.

In the first experiment 1 c.c. of the solution was injected into a vein of the right ear of a rabbit, and the other ear was immediately inoculated with virulent anthrax. A control animal was inoculated at the same time. Both these rabbits died between the 30th and 40th hour after inoculation. The inoculated (left) ear of the "protected" rabbit was intensely œdematous, but no other differences were observable in the two cases.

Assuming that the cause of failure was the smallness of the dose administered, I began a new series, this time making daily injections of 1·5 c.c. hypodermically for several days previous to inoculating with anthrax. The results obtained in this series were as follows:—

Rabbit 1 (control) died between the 36th and the 40th hour.

* I find that Rauschenbach (Dissert. Dorpat, 1882) has described the addition of yeast cells to cold horse plasma as producing an increased coagulability and an increased yield of fibrin.

† I have also made some experiments to determine whether tissue-fibrinogen would produce immunity in guinea-pigs against charbon symptomatique, but am not reporting them here because I obtained only negative results.

Rabbit 2. Previous to inoculation with anthrax, five successive daily injections of 1.5 c.c. of protective fluid, an interval of 24 hours being allowed to elapse between the last of these injections and the inoculation with anthrax.

Death from anthrax in 46 hours.

Rabbit 3. Treated in the same way as rabbit 2, with the exception that only three successive daily injections were made.

Death from anthrax in 64 hours.

Rabbit 4. Same treatment as rabbit 3 before the anthrax inoculation, but the daily injections were also continued subsequently to the inoculation.

Death from anthrax between the 120th and the 135th hour.

In the above series there was thus in all cases a lengthening of life in the rabbits treated with the protective fluid; life most marked in those which had received injections of the protective fluid both before and after the anthrax inoculation.

With the knowledge thus gained, I undertook a new series of experiments, this time on 12 rabbits. Two of these rabbits were set aside as controls. In the case of four others my object was to determine the effect upon the course of the anthrax when the injections of protective fluid were made only subsequently to the anthrax inoculation.

The result of this third series was as follows:—

Rabbit 1. Four antecedent daily injections of 2 c.c. of protective fluid. Daily injections of 2 c.c. subsequent to inoculation.

Death from anthrax in 68 hours.

Rabbit 2. Three antecedent daily injections of 2 c.c. of protective fluid. Subsequently to inoculation, daily injections of 2 c.c., decreased afterwards to 1 c.c. daily.

This rabbit still survives (10 weeks later).

Rabbit 3. Four antecedent daily injections of 1 c.c.; subsequently to inoculation, daily injections of 1 c.c.

Death from anthrax in 60 hours.

Rabbit 4. Three antecedent daily injections of 1 c.c.; subsequent daily injections of 1 c.c. continued for 14 days. This rabbit also survived, and was killed eight weeks after the inoculation.

Rabbit 5. Two antecedent daily injections of 1 c.c.; subsequently, injection 1 c.c. daily. This rabbit also survived, and was killed seven weeks after.

Rabbit 6. Two antecedent injections of 2 c.c.; subsequently, injections of 1 c.c. daily.

This rabbit survived, and was killed at the end of eight weeks.

Rabbit 7 (control). Death from anthrax in 48 hours.

Rabbit 8 (control). This rabbit still survives. There was some hæmorrhage from the seat of inoculation as noted at the time, and the virus, I think, may be assumed to have been washed away.

Rabbits 9, 10, 11, 12. All these rabbits received daily injections of protective fluid subsequently to their inoculation with anthrax.

They died from anthrax in 36, 72, 72, 72 hours respectively after inoculation.

In this series, as has been seen, four out of six rabbits treated with daily injections of 1 to 2 c.c. of tissue-fibrinogen solution, both before and after inoculation with a very virulent anthrax, survived that inoculation.

This is the last of the series which I can regard as completed, and therefore the last I can record before sending this communication to press. I hope, however, soon to be in a position to report upon another further series.

I do not therefore propose at this stage to discuss these experiments further than to say that they appear to me, as far as they go, to confirm entirely Wooldridge's results. With respect, however, to one of the questions raised by them, I must state that I have succeeded in growing anthrax, not luxuriantly, it is true, but sufficiently so to be visible to the naked eye, in sterile tubes of this protective fluid. This, as is well known, had been previously done by Wooldridge, who in his *first* communication to the Royal Society ascribed the immunity-producing results he obtained to this growth of anthrax. The fact that anthrax will grow at all in a solution, which is probably very poor in the requisite salts, seems to me to be irreconcilable with the suggestion that Wooldridge's results were due to the presence of proteids which are directly poisonous in their action upon the micro-organisms of disease.

Further, I am bound to say, in criticism of the experiments which I have just reported, that it is undoubtedly *possible*, though it appears to me to be very improbable that the results I have described may have been due to (a) a "mixed infection," or (b) to the injection of bacterial products. I have sought to guard against the latter contingency as far as possible by very careful and repeated washing of the precipitate before it was taken up in solution and used for injection. On the other hand, in order to guard against a "mixed infection," the solution was, as has been stated, sterilised by passing through a Chamberland filter, and the flask, plugged with sterile wool, was kept continuously in a mixture of ice and salt inside an ice-chest. The chances of a mixed infection were thus minimised. I cannot, of course, assert that they were absolutely excluded, even though perfectly pure cultures were successfully made from the animals which died in the second series, and though the cover-glass preparations made from the dead animals in all cases uniformly showed the presence of pure anthrax.

In conclusion, I have to thank Dr. Cartwright Wood, and Dr. Sims Woodhead, the Director of the Laboratories of the Conjoint Colleges, where the experiments here reported were performed, for a great deal of kindly and self-sacrificing assistance afforded me in the bacteriological part of my work.



On Immunity to *Diplococcus Pneumoniæ*.*

BY

Professor FOÀ.

On the 16th December, 1887, Foà and Bonome made a communication to the Medical Academy of Turin, on the immunity conferred against bacteria by means of their soluble products.

On the 25th December of the same year, there appeared the more generally known paper of Roux and Chamberland on the same subject.

In the year 1888, Foà and Bonome communicated the first positive results on the immunity towards the *diplococcus pneumoniæ*, conferred by means of its soluble products.

In the year 1890, Foà made experiments on animals with the substance obtained by precipitation with ammonium sulphate from cultures, as well as from the muscles and other tissues of an infected rabbit. They obtained in some cases a relative, and in some other cases an absolute immunity.

On the 22nd May, Foà and Carbone reported that they had also succeeded in conferring immunity with alcoholic precipitates obtained from the same sources, and from experiments on rabbits rendered immune against the *diplococcus pneumoniæ*, they came to the conclusion that of all methods used, the most reliable and satisfactory one, was that of subcutaneous injections of small and repeated doses of the filtered cultures in broth, while the least preferable was the method of vaccination with attenuated diplococci. The duration of the immunity thus conferred by chemical means varied from two to six months.

Foà and Carbone have since last December found that the blood serum of rabbits rendered immune had the power when injected into other rabbits to confer the same immunity against *diplococcus pneumoniæ*, although when properly tested it appeared to possess no microbicidal power towards this organism. The same authors, on studying the therapeutical action of the serum of a rabbit rendered immune, have found that it is possible to prevent the infection in rats with *diplococcus pneumoniæ* by previously injecting the serum of rabbits rendered immune, and succeeded in getting the same result in rabbits; death however has been delayed in rabbits treated with such serum previous to inoculation with the *diplococcus*. They have also in such cases made the curious observation that no diplococci at all were to be found in the blood.

Rabbits injected subcutaneously with a relatively strong dose of filtered culture of *diplococcus pneumoniæ* die of acute marasmus within six to seven days, and their blood, freed soon after death from any micro-organism, is capable of killing another rabbit by acute marasmus in seven to eight days. Its blood produces in a third rabbit a great loss

* Communicated by Professor PERRONCITO.

of weight, but it has no longer the killing power. The chief *post-mortem* changes found in rabbits which have died from marasmus are a great destruction of blood, an abundant formation of pigment, and the complete disappearance of nucleated red globules from the bone marrow.

Les Substances microbicides du Sérum.

PAR

M. J. de CHRISTMAS.

Les auteurs qui se sont occupés de la question de l'influence microbicide du sérum frais sur les micro-organismes sont unanimes à constater que cette influence existe, quoique à un degré souvent assez faible, car si elle occasionne la mort d'une partie des germes, qu'on a ensemencé dans le sérum, elle n'empêche jamais les survivants de s'y développer.

Nous avons obtenu des résultats concordants avec ceux de ces auteurs en ensemençant les baeilles du charbon, de la diphtérie, de la fièvre typhoïde, du pus bleu et le staphylococcus aureus dans le sérum frais du lapin, du cheval et du chien. Une partie des germes mouraient après l'ensemencement, les survivants commençaient à se développer après un léger retard et finissaient par former des cultures aussi abondantes que dans le bouillon nutritif.

Dans une série d'expériences, dont le détail sera publié dans les Annales de l'Institut Pasteur, nous nous sommes efforcés à expliquer les causes de cette influence microbicide, causes qui jusqu'ici ont été négligées ou ignorées.

Ces causes sont d'ordre physique et d'ordre chimique. La raison physique qui explique en partie la mort des germes est à chercher dans l'influence des différences de densité des milieux de culture ordinaires et du sérum. C'est ainsi que les microbes habitués à vivre dans l'eau ordinaire ou l'eau distillée meurent en grande partie si on les sème dans du sérum, même chauffé, et ceux qui survivent ne s'y développent que difficilement. Le bacille charbonneux, qu'on a habitué pendant plusieurs générations à vivre dans le sérum et qu'on transporte ensuite dans du bouillon nutritif, y meurt en grande partie. Le résultat est le même si au lieu de bouillon on le transporte dans de l'eau ordinaire ou de l'eau distillée. L'importance qu'il faut ajouter à ce fait est prouvée par les chiffres suivants :—

	Plaque de contrôle	1 heure.	2 heures.	12 heures.
I. Bouillon nutritif - - -	120	56	48	27
II. „ „ - - -	741	369	315	107
III. Eau ordinaire. - - -	622	233	195	132
IV. Eau distillée. - - -	540	302	250	181

On voit qu'à peu près la moitié des germes sont morts déjà après une heure sous l'influence de la plasmolyse.

M. Haffkine a déjà attiré l'attention sur cette influence du changement brusque du milieu, et il a trouvé que le bacille de la fièvre typhoïde habitué à vivre dans le bouillon, meurt en grande partie si on l'introduit dans l'humeur aqueuse du lapin, mais si on l'habitue peu à peu à ce changement de milieu, il finit par y vivre et à s'y développer mieux que dans le bouillon.

Dans l'avenir il faudra donc tenir compte de ces phénomènes, et les expériences sur le pouvoir microbicide des liquides doivent être faites avec des cultures faites dans des milieux de même densité et de même composition que le liquide à essayer, si on ne veut pas s'exposer à attribuer au liquide en question une influence microbicide, qui n'est occasionnée que par des phénomènes osmotiques.

Les qualités microbicides du sérum frais trouvent leur explication dans la quantité d'acide carbonique que le sérum contient absorbée et dans la constitution chimique de ses substances albumineuses, qui en état frais ne sont que très difficilement assimilables par les microorganismes.

L'acide carbonique est un antiseptique assez énergique comme l'ont déjà prouvé les expériences de *Pasteur* et *Joubert*, *Fraenkel*, *Behring* et d'autres.

Son influence microbicide devient particulièrement manifeste dans l'expérience suivante. Si on laisse traverser du sérum chauffé, par conséquent dépourvu d'influence microbicide, par un courant d'acide carbonique pendant un temps très court (de 30 à 60 secondes), ce sérum redevient microbicide à un haut degré, car plus de la moitié des germes yensemencés sont déjà morts au bout d'une heure. Le bouillon nutritif saturé d'acide carbonique est un microbicide encore plus fort que le sérum, car un séjour de 4 heures dans un semblable bouillon affaiblit la bactériodie au point qu'il ne se développe plus du tout dans la gélatine.

Voici le résultat de quelques expériences qui montrent avec quelle vitesse l'acide carbonique absorbé par le sérum tue les germes :—

—————		Plaque de contrôle.	1 heure.	2 heures.	4 heures.
I. } II. } III. } IV. } V. }	Sérum de bœuf chauffé et traversé pendant une minute d'un courant d'acide carbonique.	539 692 247 920 437	12 110 156 176 203	55 72 159 172 125	191 120 155 123 102
Bouillon	- - - - -	346	177	119	0
Nutritif	- - - - -	179	77	61	0

Rien d'étonnant donc que le sérum frais qui contient des quantités considérables d'acide carbonique (à peu près 60 volume p. C.) devient microbicide, tandis que le sérum chauffé, qui n'en contient que des traces, perd cette qualité.

La difficulté avec laquelle les microorganismes s'assimilent les substances albumineuses du sérum est encore une des raisons qui

expliquent leur mort. Cette influence devient manifeste si on se prépare des solutions aqueuses de ces substances après les avoir précipitées avec de l'alcool fort. Ces solutions dans la même concentration dans laquelle elles se trouvent dans le sérum exercent une influence microbicide prononcée sur les germes qu'on y ensemence. La presque totalité y meurt, ceux qui survivent ne se développent que très lentement.

Si on chauffe ces solutions aqueuses pendant 1 heure à 60° elles redeviennent assimilables, probablement parceque les substances albumineuses—la sérumalbumine et la sérumglobuline—commencent déjà à cette température à subir une légère peptonisation. Si on ajoute du bouillon alealin à ces solutions leur assimilation se fait très facilement.

L'albumine de l'œuf se comporte à peu près comme le sérum. En état frais elle est fortement microbicide pour les cinq espèces que nous avons examinées et qui n'arrivent jamais à s'y développer. Si on la mélange avec du bouillon ou si on la chauffe jusqu'à coagulation, elle devient au contraire facilement assimilable.

DISCUSSION.

Professor Hueppe (Prag):—Die Ansichten über die Betheiligung der Zellen und der Säfte gehen zur Zeit wieder so weit auseinander, dass eine Klärung und Verständigung fast unmöglich scheint. Während in der Phagocythentheorie den Zellen die Hauptaufgabe zugewiesen ist, sieht Emmerich in denselben nach seinen heutigen Worten nur einen Irrthum der Natur, und Behring findet sich mit den Zellen kurz mit dem Goetheischen Satze ab, dass Blut ein ganz besonderer Saft sei. Das Blut ist, wie Virchow zuerst hervorhob, ein lebendes Gewebe, und dies muss jetzt sogar noch dahin erweitert werden, dass das Blut auch durch sein lebendes Eiweiss wie alle Gewebssäfte Wirkungen ausübt. Durch die Immunisirung der Thiere gewinnt sogar der Saft, d. h. eben das lebende Eiweiss, neue Eigenschaften antiparasitärer und antitoxischer Art. Aber spricht dies denn gegen die Mitbetheiligung der Zellen? Ich denke Nein, und die Zellen können ruhig diese humorale Phase über sich ergehen lassen und warten und sie werden dann wieder hervorgeholt werden müssen, wie auch schon früher. Die normalen Eigenschaften des Blut- und Gewebssaftes und ihres lebenden Eiweiss sind in ihrer relativen Constanz abhängig von der Constanz der festen Bestandtheile, der Zellen, welche als Ernährungseinheiten sich aus dem Nährsaft nehmen, was sie brauchen, und dies *specifisch* verarbeiten. Darin allein liegt es, dass die Säfte specifische, ev. also auch antiparasitäre und antitoxische Wirkungen *besitzen*. Bei der Immunisirung sind es die für die jeweilige Infectiouskrankheit specifisch in Betracht kommenden Organe, Gewebe, Zellterritorien und Zellen, welche es erst vermitteln, dass das Blut ev. neue, relativ dauernde antiparasitäre und antitoxische Eigenschaften *annimmt*. Ohne diese Interferenz der Zellen müsste die Immunisirung viel schneller eintreten, als dies thatsächlich geschieht, und sie könnte keine Dauer haben, die manchmal doch so lange nachweisbar ist. Das Resultat eines Einflusses auf Säfte allein ist stets die *Mischung*, d. h. die Aufhebung specifischer localisirter Eigenschaften und das Eintreten gleichförmiger Verhältnisse überall. Das ist aber das gerade Gegentheil dessen was wir bei der natürlichen Immunität

finden und bei der Immunisirung künstlich hervorrufen. Jede Immunisirung schafft etwas specifisch neues und dauerndes, so dass stets hinter den an sich labilen und unbeständigen Säften die stabilen, relativ dauernden und zwar specifisch dauernden Zellen stehen *müssen*. Die Zellen bleiben den Säften übergeordnet und jeder therapeutische Fortschritt muss ein zellulärtherapeutischer sein, für den ich an anderer Stelle im Stande war bereits 4 führende Gesetzmässigkeiten zu entwickeln, denen sich auch die Immunisirung durch Säfte als Specialfall untergeordnet erweist. Wenn man meint, dass therapeutische Fortschritte sich erst aus der Kenntniss der Immunisirungs-Möglichkeit durch Flüssigkeiten ergeben und deshalb die Säfte wichtiger sind, so ist dies ein vollständiges Verkennen der Sachlage. Gerade für diese Flüssigkeiten lässt sich experimentell zeigen, dass ihre Wirkung in erster Linie die von nutritiven und formativen *Reizen* auf fixe und mobile Zellen ist, d. h. dass thatsächlich *die Wirkung der Säfte nur auf dem Umwege der Zellen manifest wird*. Weit entfernt gegen die Zellen zu sprechen, beweisen bei genügend weitgehendem und nicht vorzeitig abgebrochenem Experimente die Säfte selbst nur, dass sie den Zellen untergeordnet sind und von diesen erst in ihrer Wirkung und deren Constanz bestimmt werden.

Bei den Säften selbst müssen wir wieder die Fähigkeit specifisch zu Heilen und zu Immunisiren von der Fähigkeit trennen specifische Giftwirkung zu entfalten. Schon 1887 wies ich nach, dass total abgeschwächte, also keiner specifischen Giftwirkung fähige Bakterien doch immunisiren können, was später auch anderweitig bestätigt wurde. Ebenso kann man mit Culturen, deren specifische Giftwirkung zerstört ist, noch immunisiren, resp. heilen, und Prudden und Hodenpyl realisirten gewissermassen ein Zwischenstadium, idem sie nachwiesen, dass auch todte Tuberkelbacillen im Körper ihre nutritive und formative Reize entfalten. Nur die Wahrnehmung, dass specifische Infectionszellen (unabhängig von ihren giftigen und ungiftigen Stoffwechselproducten) durch ihr specifisches Protoplasma specifische Reize auf specifische Zellterritorien der Wirthe ausüben, erklärt einigermassen, weshalb jede Immunität und Immunisirung *specifisch* ist.

Professeur Arloing (Lyons) dit:--Dans l'exposé des travaux relatifs à la théorie de l'immunité, M. Roux a oublié de citer ceux qui attribuent un certain rôle à l'accoutumance des éléments des tissus et notamment de ceux du système nerveux aux produits solubles fabriqués dans l'organisme par les microbes pathogènes, au cours d'une maladie développée accidentellement ou artificiellement.

En 1890, j'ai publié dans les Archives de Médecine expérimentale un court mémoire où j'établis que l'immunité *naturelle* résulte quelquefois d'une indifférence de l'organisme aux toxines microbiennes, tandis que la susceptibilité de certaines espèces animales à quelques maladies virulentes répond à une grande aptitude de ces espèces à servir de milieu de culture aux microbes producteurs des dites maladies.

Dans le premier cas, les organismes indifférents aux toxines peuvent néanmoins se prêter parfois à l'implantation et à la pullulation des microbes producteurs de ces dernières. De sorte que ces organismes servent de *porte-virus* sans qu'on les soupçonne de cette aptitude, attendu qu'ils ne présentent pas les symptômes de la maladie dont ils recèlent le microbe. N'est-ce pas la reproduction des faits qui se passent dans l'immunité artificiellement provoquée, lorsqu'on veut s'assurer de son existence par une inoculation d'épreuve ?

L'immunité ne dépend donc pas d'une cause unique et toujours la même. Elle est probablement la résultante d'influences diverses parmi lesquelles l'inaptitude des organismes, par suite de l'accoutumance, à ressentir les effets des produits sécrétés par les microbes doit prendre place.

L'immunité se présente à des degrés variés. Elle croît à partir d'une certaine période de la maladie, et elle persiste plus ou moins longtemps après la guérison, en dépit de la rénovation de la partie liquide de l'économie. L'accoutumance des éléments aux effets d'une toxine rend parfaitement compte de ces particularités. Au surplus, dès l'instant qu'on l'admet pour les phagocytes, je ne vois pas la raison pour laquelle on se refuserait à l'étendre à d'autres éléments fixes de l'économie.

Professor Fodor (Budapest) sagte:—Ich glaube zum ersten Male experimentelle Beweise geliefert zu haben, dass die Theorie von Metschnikoff zur Erklärung des Kampfes des Körpers gegen Bakterien nicht im Allgemeinen angenommen werden kann. Ich wies nach, dass Bakterien (Anthrax) aus dem Blute, und zwar auch ausserhalb des Körpers, schnell verschwinden, ohne dass man dieselben in den Blutzellen (lebend oder todt) auffinden könnte. Buchner wies nach, dass selbst Serum des Blutes diese Wirkung ausübt. Ich habe diese *Tödtung* gewisser Bakterien entgegen des *mechanischen Phagocytismus* einer chemischen Wirkung des Körpers—einem *Cytochemismus*—zugeschrieben.

Ich glaube, dass die Berechtigung dieser Auffassung derzeit hinlänglich bekräftigt ist.

Meine weiteren Untersuchungen sprechen auch für diese Auffassung. Ich konnte durch Erhöhung der Alkalinität des Blutes im lebenden Thiere selbst (wie es nach den Versuchen von Behring als wahrscheinlich erschien) die Widerstandskraft des Thieres gegen Anthrax erhöhen. Zu diesen will ich heute nur noch hinzufügen, dass die Erhöhung oder Verminderung der Alkalinität des Körpers gegen *verschiedene* Bakterien eine *verschiedene* Einwirkung auszuüben scheint; während bei Anthrax die Alkalisierung die Widerstandskraft erhöht, scheint dieselbe nach meinen bisherigen Erfahrungen bei Schweinerothlauf und auch bei Sepsis die Widerstandskraft zu vermindern.

Professor Ehrlich (Berlin) spricht über die durch Ricin und Abrin erzeugte Immunität, die durch die Anwesenheit antitoxischer Substanzen bedingt ist. Specieller bespricht er die Vererbungsfrage. Nachkommen hochimmuner Väter sind nicht immun. Dagegen sind Nachkommen immuner Mütter (in der 4–8 Woche geprüft) relativ immun, allerdings erheblich geringer als die Mutter. Es scheint, sich hier nicht um eine wahre (auf Modification des Keimplasma beruhende) Vererbung zu handeln, sondern nur um die intrafoetale Uebertragung von Antiricin und Antiabrin.

Dr. Kitasato (Tokio) sagte:—Wie ich im vorigen Jahre mit Herrn Behring gemeinschaftlich publicirt habe, macht das mit Jodtrichlorid gegen Tetanus künstlich immunisirte Kaninchen-Blut die Mäuse nicht nur für Tetanus refractär, sondern es bringt schon ausgebrochenen Tetanus zur Heilung. Diese Thatsache beweiste also, dass das *künstliche* immunisirte Blut gegen eine acut verlaufende Krankheit wie Tetanus wirksam ist.

Dagegen hat es sich herausgestellt, dass von Haus aus gegen Tetanus immunes Hühnerblut andere Thiere weder immunisirt, noch die ausgebrochene Krankheit zur Heilung bringt.

Es muss also zwischen dem Blute des künstlich für Tetanus refractär gemachten Kaninchen und von Haus aus gegen Tetanus immunen Hühners irgend ein Unterschied sein.

Professor Victor Babes (Bueharest):—*Experimente über Hundswuthimpfung.*—Meiner Meinung nach ist die Frage der Ursache der Immunität noch nicht aufgeklärt, eben deshalb haben Thatsachen zur Klärung derselben grossen Werth. Die Resultate, über welche ich berichten will, haben noch insoferne Interesse als es sich kaum um eine bacterielle Erkrankung handelt.

(1.) Zunächst habe ich versucht, Hunde und Kaninchen durch Impfung mit albuminösen Substanzen, oder mit den precipitirten löslichen Fermenten, welche aus Gehirn an Wuth verstorbenen Thieren gewonnen wurden, immun zu machen. Dies gelingt aber nicht. Diese Substanzen erzeugen ein eigenthümliches Fieber.

(2.) Virulente Substanzen auf 80° C. erwärmt, verlieren ihre Virulenz, sind in grossen Dosen aber noch wirksam zur Impfung. Auf Temperaturen über 90° C. erwärmt, konnten wir nicht mehr Schutzimpfen.

(3.) Die Lymphe der natürlich immunen Frösche zerstört ausserhalb des Froshkörpers in mehreren Stunden das Wuthgift.

(4.) Die virulente Substanz in den Lymphsack des Frosches gebracht, wahrt aber 14 Tage lang seine ganze Virulenz.

(5.) Das Blut hyperimmunisirter Hunde gegen Hundswuth besitzt vorzügliche immunisirende Wirkung bei Hunden. Dasselbe, ebenso wie jenes immunisirter Menschen, wurde in unserem Institute auch in gewissen Fällen neben den Pasteurischen Verfahren mit Erfolg beim Menschen verwendet.

Mr. Adami (Cambridge) said:—The opposition exhibited towards each other's views, by the adherents of the cellular and humoral theories of immunity respectively, gives the impression that these theories are incompatible. Is this the case? Undoubtedly the more one seeks to observe phagocytic action, the more one becomes impressed by the important part it must play in the resolution of zymotic disease; one has only to adopt satisfactory methods in order to determine how frequent is the phenomenon. On the other hand the contention of those supporting the humoral theory cannot be gainsaid. Outside the organism, serum and other body-fluids exercise a destroying action upon micro-organisms, and a relationship is capable of being made out in some cases between the extent of immunity possessed by the animal and the bactericidal power of the fluids obtained from it. Hence within the organism, also, the forces must be represented which render the extracted fluids bactericidal. Here, however, comes in the weak point of the humoral theory, or theories—the extracted fluids have a bactericidal power out of all proportion to that obtaining in the humours within the system. This weakness it is which indicates the way whereby the two theories are to be harmonised: there is a "via media." For, in my opinion, phagocytosis alone, though prominent, is not capable of covering the whole field of immunity and the cure of disease. It is difficult, for instance, in the light of the cellular theory to comprehend the resolution of disease by crisis.

If it can be shown that phagocytes and potential phagocytes elaborate substances which possess a well-marked power of destroying bacteria, then many of the difficulties of both theories are explained away. Mr. Metchnikoff's observations upon the existence of digestive fluids in phagocytes and Mr. Hankin's researches upon the bactericidal substances

to be extracted from lymphatic glands show that this is no mere supposition. It is therefore wise to steer a middle course and to accept facts elucidated by the upholders of both theories, to acknowledge that certain cells of the body act as phagocytes, incepting and destroying bacteria, that they accomplish the destruction by means of special substances elaborated for the purpose, that the bacteria-killing substances may, under certain circumstances, be liberated, and when liberated, may—in the extracted blood-serum—be the sole bactericidal agents, or may—during the course of zymotic disease—become powerful auxiliaries to the more direct phagocytic action.

Dr. Metchnikoff (Paris) dit : — Vous comprendrez, Messieurs, l'état d'embarras dans lequel je dois me trouver. Plusieurs des orateurs qui vous ont entretenu ont apporté des objections contre la théorie des phagocytes ; dans le peu de temps qui peut m'être donné, il m'est impossible d'entrer dans de longues discussions sur chacun des points qui ont été soulevés. La difficulté pour moi est d'autant plus grande que je dois parler en une langue que je ne connais qu'insuffisamment. Je dois donc avant tout solliciter votre indulgence.

Plaçons nous dès le début sur le terrain des faits et pour faciliter notre tâche choisissons un exemple déterminé et recherchons qu'elle est celle des théories émises sur l'immunité qui l'explique le mieux. Nous n'arrêterons pas notre choix sur un cas favorable pour la théorie des phagocytes, comme par exemple sur les staphylocoques de la suppuration, parce que de l'avis presque unanime des auteurs le pouvoir bactéricide des humeurs ne s'exerce pas sur eux. Nous prendrons un exemple où il ne s'agit ni d'une neutralisation de toxines, ni d'une atténuation de la virulence qui laissent encore le virus vivant, mais bien de la *destruction complète des microbes pathogènes*. Et encore nous choisirons cet exemple parmi les cas d'une propriété bactéricide des humeurs la plus manifeste. MM. Behring et Nissen dans un travail très important exécuté à l'Institut hygiénique de Berlin, ont fait la découverte remarquable du pouvoir bactéricide du sérum des cobayes, vaccinés contre le *Vibro Metchnikovi*, vis-à-vis de ce microbe. Ils ont démontré que tandis que ce vibron se développe sans la moindre entrave dans le sérum des cobayes sensibles à la maladie, il est au bout de trois à cinq heures de séjour déjà totalement détruit dans celui des cobayes vaccinés. MM. Behring et Nissen sont persuadés qu'il s'agit ici d'un cas d'immunité due exclusivement à la propriété bactéricide du sérum des cobayes vaccinés. L'élimination des phagocytes dans ce cas serait d'autant plus parfaite que M. Pfeiffer n'a jamais pu réussir de retrouver des vibrions inoculés à des cobayes vaccinés dans l'intérieur de toutes les catégories de ces cellules (macro- ou microphages).

Le fait constaté dans sept cas par MM. Behring et Nissen est—comme il fallait du reste s'y attendre—parfaitement exact. Le sérum du cobaye vacciné tue les vibrions au bout de peu de temps, tandis que le sérum du cobaye sensible non vacciné leur permet un développement très abondant. Dans une expérience, où les vibrionsensemencés provenaient d'un cobaye mort de la septicémie vibrionienne, ces microbes étaient détruits déjà une heure après leur introduction dans le sérum d'un cobaye vacciné. Dans le sérum du cobaye témoin ces mêmes vibrions se multiplièrent sans entrave.

Voyons maintenant comment se passent les phénomènes dans l'organisme des cobayes vaccinés et sensibles. Inoculons un peu de culture fraîche sur gélose sous la peau d'un cobaye vacciné et d'un autre,

témoin. Très peu de temps après l'endroit inoculé des deux animaux présentent un gonflement; la peau s'enflamme et devient chaude; il se forme un exsudat liquide, qui est presque totalement dépourvu de leucocytes chez le témoin et en renferme un plus ou moins grand nombre chez le vacciné. Quelques (4 à 5) heures après l'inoculation nous trouvons déjà des cas marqués de phagocytose chez le vacciné. Les leucocytes englobent les vibrions, dont un assez grand nombre se trouve encore libre dans le liquide de l'exsudat. Mais bientôt le nombre des leucocytes ainsi que la quantité des vibrions libres englobés augmente; les vibrions deviennent de plus en plus rares et vers quinze heures après l'inoculation on n'en trouve plus du tout. Dans l'exsudat retiré plus tard les vibrions ne se rencontrent qu'à l'intérieur des leucocytes. Chez le cobaye témoin les leucocytes font complètement ou presque complètement défaut dans l'exsudat, dans lequel les vibrions pullulent librement comme dans un liquide de culture artificiel. L'animal ainsi infecté ne tarde pas à mourir.

Si l'on introduit le virus dans la chambre antérieure de l'œil les phénomènes revêtent le même caractère, avec la différence que chez le cobaye vacciné les vibrions libres se retrouvent beaucoup plus longtemps qu'après l'injection sous-cutanée.

Le fait de la phagocytose chez les cobayes vaccinés, nié par M. Pfeiffer, existe incontestablement. Mais peut-être ces phagocytes ne renferment-ils que des vibrions morts, tués préalablement par l'humeur de l'exsudat? Il est facile de se convaincre que ce n'est point le cas. L'exsudatensemencé dans des milieux nutritifs (bouillon ou gélose) donne des cultures au bout de plus de 48 heures s'il s'agit d'une inoculation sous-cutanée, et encore au bout de huit jours si on a affaire avec la chambre antérieure de l'œil. La propriété bactéricide si remarquable dans les expériences avec le sérum préparé et traité d'après la méthode adoptée par MM. Behring et Nissen, fait complètement défaut dans le liquide de l'exsudat. Pour s'en assurer d'une façon tout à fait précise on peut procéder de la façon suivante. Retirons une goutte d'exsudat sous-cutané douze heures après l'inoculation des vibrions et mettons la en goutte suspendue sur une lamelle que nous préserverons contre la dessiccation et que nous soumettrons à une température convenable (25-38°). Nous verrons infailliblement que les rares vibrions libres, encore mobiles, commenceront à se multiplier dans l'exsudat et finiront par envahir la goutte suspendue de celui-ci. Les vibrions peuvent donc vivre et se diviser au moins pendant douze heures dans les humeurs inflammatoires.

Si nous retirons l'exsudat sous-cutané de 15 à 48 heures après l'inoculation du cobaye vacciné, nous ne trouverons que des vibrions emprisonnés dans les leucocytes et cependant encore vivants. Les gouttes suspendues faites avec cet exsudat nous permettront d'observer un phénomène très remarquable. Les leucocytes qui meurent dans la goutte suspendue de l'exsudat en dehors de l'organisme, mais qui renferment des vibrions dans leur intérieur deviennent le siège d'une multiplication rapide. Les vibrions remplissent d'abord tout le contenu du leucocyte qui gonfle d'une façon surprenante et qui finit par éclater. Les vibrions débarrassés de cette façon forment des amas considérables qui continuent leur développement dans le liquide d'exsudat. Je ne connais point d'exemple où le fait d'englobement des microbes vivants pourrait être plus sûrement et plus facilement prouvé que dans ce cas de vibration chez le cobaye vacciné.

Il est donc tout à fait démontré que dans l'exsudat inflammatoire des cobayes vaccinés se ne sont point les humeurs mais les phagocytes qui détruisent les vibrions. La propriété bactéricide du sérum n'est donc pour rien dans cette lutte dans le point lésé. Mais peut-être, dira-t-on, cette propriété bactéricide du sérum entrera en fonction lorsque le microbe pour se généraliser entrera dans le sang? Cette supposition doit être rejetée pour deux raisons. D'abord parce que dans les phagocytes nous voyons le facteur qui détruit les vibrions sur place; ensuite parce que le vibrion qui vit dans l'exsudat du cobaye vacciné s'adapte très facilement dans le sérum du cobaye vacciné. Il y croît même mieux que dans le sérum du non vacciné, comme le démontre l'exemple suivant:

Nombre des colonies sur plaque de gélatineensemencées par une anse de platine du sérum:

	Sérum du cobaye vacciné.	Sérum du cobaye témoin.
Immédiatement après l'introduction des vibrions dans le sérum.	10,488	6,720
1 heure plus tard - - - - {	1,320 440	21 15
3 heures plus tard - - - - {	302 256	47 52
23 heures plus tard - - - - {	~ ~	~ ~

La propriété bactéricide du sérum des cobayes vaccinés ne contribue donc nullement à la destruction des vibrions dans leur organisme, qui se fait par des phagocytes.

Nous n'avons pas de temps pour analyser ce cas de façon à donner l'explication de ce résultat paradoxal, et je me contenterai seulement de citer ici les expériences de MM. Buchner, Ibener, et Roeder, qui vous ont été communiqués aujourd'hui et qui peuvent expliquer la différence du pouvoir bactéricide dans un tube rempli de sérum et renfermant des rares vibrions et dans le tissu sous-cutané dans lequel on a introduit une goutte épaisse de culture du même vibrion.

Mais peut être, englobé vivant et digéré ensuite par les phagocytes, le vibrion a été atténué préalablement dans sa virulence par une action atténuatrice de l'exsudat inflammatoire?

En ce qui concerne cette question importante je dois me borner à dire que dans mes expériences à quelques exceptions près cet exsudat ainsi que les cultures dans le sérum des vaccinés inoculés directement sous la peau de cobayes ou dans le muscle des pigeons leur a donné la septicémie mortelle. Puisque cet exsudat n'est retiré qu'en quantité de quelques gouttes, qu'il renferme déjà un grand nombre de vibrions englobés par les phagocytes, les conditions pour donner la mort sont bien défavorables et pourtant les vibrions se sont montrés virulents. Vu que ces microbes s'atténuent avec une grande facilité dans le bouillon de veau ordinaire, je me suis servi souvent de ces cultures pour inoculer les cobayes. L'exsudat retiré même après un séjour prolongé dans l'organisme du cobaye vacciné a fourni des cultures plutôt plus virulentes

que les cultures originales. Ainsi les cultures faites avec l'exsudat de la chambre antérieure, retiré cinq et huit jours après l'inoculation de l'animal, ont tué les cobayes en 9 heures, 6 heures et demie et 7 heures, c'est-à-dire ont manifesté la virulence la plus considérable.

On ne peut donc point appliquer la théorie de l'influence atténuatrice des humeurs pour expliquer l'immunité dans notre cas.

Il reste encore le pouvoir toxicicide. Mais on peut d'autant moins invoquer ce facteur que c'est justement dans cette maladie vibrionnienne qu'a été démontré pour la première fois le fait remarquable que les animaux complètement vaccinés contre l'infection sont aussi sensibles aux doses toxiques des cultures stérilisées que les animaux non vaccinés. Cette sensibilité se manifeste dans la mort qui survient après les mêmes doses pour les cobayes vaccinés et neufs, ainsi que dans les phénomènes inflammatoires et fébrils. Ce fait, découvert par M. Gamaleia, a été confirmé par M. Pfeiffer et par moi-même.

La septicémie vibrionnienne des cobayes nous présente donc une maladie infectieuse dans laquelle de tous les facteurs connus de l'immunité ce sont certainement les phagocytes qui jouent le rôle le plus important. Le fait de la propriété bactéricide du sérum, si remarquable qu'elle soit, ne sert pour rien dans l'acquisition de l'immunité tout à fait comme la même propriété du sang des rats blancs vis-à-vis la bactérie, ainsi qu'il vous a été exposé par M. Roux.

L'analyse des faits nous montre donc que dans cette confrontation des différentes théories de l'immunité pour expliquer le cas choisi le plus défavorablement pour la théorie des phagocytes que c'est encore cette dernière qui rend le mieux compte des phénomènes réels, observés sur l'animal réfractaire.

La théorie du pouvoir microbicide des humeurs, dont l'insuffisance a déjà été reconnue par l'un de ses fondateurs principaux—M. Behring lui-même (D. med. Woeh. 1891, No. 19, p. 655), ne peut donc point servir même pour les deux exemples qui paraissaient être les plus probants—le charbon des rats et la septicémie vibrionnienne des cobayes.

La théorie de la propriété atténuatrice des humeurs n'a que peu de faits dans son actif. Dans le premier exemple, découvert par M. Grohman et qui concerne l'atténuation de la bactériémie par le plasma sanguin de cheval la discordance avec l'immunité est évidente, le cheval étant un animal sensible au charbon. Dans d'autres cas cette théorie ne repose que sur des expériences avec les cultures dans du sérum. Quelquefois, il est vrai, le sérum des animaux vaccinés contre le charbon, le bacille pyocyanique, et d'après M. Roger celui de l'érysipèle fournit des cultures de microbes qui ne tuent pas les animaux sensibles. Mais d'abord ces faits sont loin d'être constants, et puis avec ces cultures on introduit non seulement le microbe, mais encore le sérum. Or ce liquide possède quelquefois une propriété d'attirer les leucocytes, comme l'ont démontré MM. Massart et Bordet pour le sérum des lapins vaccinés contre la maladie pyocyanique et M. Roux et moi-même pour le sérum des rats. Cela complique la question et nécessite dans tous les cas une étude plus approfondie. J'ai échoué dans mon intention d'atteindre ce but par la simple raison que les lapins vaccinés contre le charbon et la pneumonie, ainsi que les cobayes vaccinés contre le *Vibrio Metchnikovi* n'ont fourni un sérum qui ne manifestait point de propriété atténuatrice vis-à-vis des microbes mentionnés. Mais ce qui est surtout important dans cette question, c'est que dès qu'au lieu d'expérimenter avec des cultures préparées avec du sérum en dehors de l'organisme, nous nous adressons aux phénomènes qui se passent dans l'organisme réfractaire même, nous

verrons des faits en contradiction avec la théorie atténuatrice. L'exsudat soucutané, ainsi que celui de la chambre antérieure de l'œil des lapins vaccinés contre le charbon, introduit directement sous la peau des cobayes et des lapins, à une époque où la phagocytose est déjà très prononcée donne à ces animaux le charbon mortel.

Il ne faut pas non plus perdre de vue les faits de l'accroissement de la virulence dans l'organisme des animaux réfractaires qui vous ont été communiqués par M. Roux.

M. Behring, le véritable fondateur de la théorie du pouvoir toxicoïde du sang, a reconnu lui-même que cette théorie ne s'applique facilement que pour des maladies exceptionnelles comme le tétanos et la diphtérie, qui se distinguent par leur caractère essentiellement toxique et par l'absence d'une généralisation des microbes. Comme l'ont prouvé MM. Vaillant et Vincent pour le tétanos, les animaux qui prennent cette maladie sont déjà naturellement réfractaires contre le microbe. Dans cette immunité contre le microbe ce sont encore les phagocytes qui jouent le rôle important. La propriété toxicoïde du sang si manifeste, joue son rôle dans l'immunité spéciale contre la toxine.

Si nous faisons toutes les avances à cette théorie et si nous acceptons (à titre purement hypothétique) que le désiratum exprimé par M. Ehrlich est réalisé, c'est-à-dire que la crise dans les maladies infectieuses est réellement due à la formation toute brusque de l'antitoxine, nous verrons même alors que le rôle réservé aux phagocytes sera encore très important. Parmi les maladies à crise citons les fièvres récurrente et paludique comme les mieux étudiées. Admettons que la crise est réellement provoquée par la destruction de la toxine dans l'organisme; mais une fois que le microbe reste vivant il peut se multiplier de nouveau et occasionner une rechute plus grave que la première. Nous savons à présent que chez le singe les spirilles sont détruits par les cellules et la maladie se termine avec le premier accès; chez l'homme, où les phagocytes n'ont pas dans la plupart des cas été capables de détruire complètement les spirilles, il se produit un second accès, malgré la formation de l'antitoxine. De même pour la fièvre intermittente. *Il est évident que ce n'est que lorsque le microbe est vraiment détruit, privé de vie, que l'organisme peut être considéré comme débarrassé. Eh bien, dans cet acte de la destruction des microbes ce sont justement les phagocytes qui accomplissent le rôle le plus marqué, comme il a été prouvé pour la maladie charbonneuse, un certain nombre d'autres maladies et aujourd'hui encore pour le vibrion de la septicémie vibrionnienne des cobayes, argument qui paraissait au début le plus favorable à la théorie du pouvoir bactéricide des humeurs.*

Depuis que la théorie des phagocytes a été énoncée, elle a soulevé des nombreuses objections basées sur des réflexions théoriques, ainsi que sur des recherches très variées. On a fait la découverte d'un grand nombre de faits très importants et émis plusieurs théories de l'immunité. Mais plus on approfondit la question, plus il devient évident que l'armée des cellules phagocytaires est véritablement une force salutaire qui s'est formée dans la lutte pour l'existence de l'organisme animal. Dans la multiplicité des phénomènes de la guérison et de l'immunité on rencontre une variété de combinaisons très grande. Tantôt les phagocytes agissent seuls, tantôt ils s'associent avec d'autres facteurs qui facilitent leur action. Mais dans tous ces cas nous voyons ces cellules entrer en lutte contre les parasites. Lorsque les phagocytes sont inactifs, c'est un signe ou d'une innocuité absolue du microbe ou au contraire de sa virulence extraordinaire.

Cette théorie des phagocytes, basée sur les principes de transformisme de Darwin et Wallace, peut à son tour rendre des services dans l'étude des phénomènes de l'évolution organique. Les maladies et la résistance de l'organisme contre elles nous présentent l'exemple d'un équilibre encore incomplet. Nous assistons, pour ainsi dire, aux actes de la lutte, et nous voyons devant nos yeux les phénomènes de la sélection naturelle mêmes.

Il serait à désirer que cette association de la science médicale avec la biologie pure soit définitive. Je pense que toutes deux en retireraient de grands bénéfices.

Dr. Hans Buchner.—Anschliessend an die Worte von Hüppe möchte ich nur, um Missverständnissen vorzubeugen, bemerken, dass die Thätigkeit von Zellen bei der Immunität auch nach meiner Auffassung keineswegs ausgeschlossen sein soll, da die ursprüngliche Erzeugung der schützenden Stoffe jedenfalls auf die Function der Zellen zurückzuführen ist. Was ferner die Darlegungen des Herrn Metschnikoff betrifft, so fehlt es wohl an Zeit, um nochmals ausführlicher auf das Thema einzutreten. Andererseits gestehe ich gerne zu, dass die ganze Frage schwierig und complicirt genug ist, um auch einen von dem meinigen abweichenden Standpunkt begreiflich erscheinen zu lassen. Ueberhaupt gehört es zu den wenig dankbaren Aufgaben, in einem Gebiete zu theoretisiren, wo beinahe täglich neue Thatfachen entdeckt werden, die vielleicht im Stande sind, die eben aufgestellte Theorie wieder über den Haufen zu werfen. Nachdem mir die ehrenvolle Aufgabe eines Referates zu Theil geworden war, musste ich eine bestimmte theoretische Ueberzeugung aussprechen und vertreten; ich füge aber schliesslich den Wunsch und die Hoffnung hinzu, es möge uns bis zum nächsten Congresse gelingen, so gewaltig an neuen thatsächlichen Erkenntnissen voranzuschreiten, dass wir dann mit wesentlich grösserer Klarheit auf die heute uns bewegenden Fragen zurückzublicken im Stande sind.

Thursday, 13th August 1891.

DISCUSSION ON TUBERCULOSIS
(conjointly with Section III.).

The Chair was occupied by
The President, SIR JOSEPH LISTER, Bart., M.D.

**Introductory Paper on the *Ætiology* of Tuberculosis in all its
Relations.**

BY

J. BURDON SANDERSON, M.D., F.R.S., Waynflete Professor of
Physiology, University of Oxford.

THE subject which I have undertaken to bring under your notice for discussion is one of the gravest importance, for there is no disease, acute or chronic, which is so productive of human suffering or so destructive of human life as tuberculosis.

In a Congress of Hygiene the subject of tuberculosis can only be considered in relation to its causes, for the aim of hygiene is to prevent disease, not to cure it. Even when thus limited our field is of large extent and includes many difficult questions. What I have specially undertaken is to direct your attention to those which relate to the dangers which are alleged to arise from the use of tuberculous food.

1. Does general tuberculosis in man originate from intestinal infection? 2. If it does, is it possible to guard against so fearful a danger?

You will see at once that the first of these questions is pathological, for it concerns the mode of origin of the disease itself; the other is practical, for it has to do with the use we can make of whatever pathological knowledge we may possess for the protection of the community.

For the purpose of avoiding useless discussion on subjects on which there ought to be perfect agreement of opinion, I will ask you to accept certain fundamental propositions as settled, such as, for example, the existence of a *materies morbi* in the form of the tubercle bacillus, its constant association with the tuberculous process, and the identity of human with bovine tubercle.

I would ask you also to allow it to be assumed that any part of the body of a tuberculous animal, or any secretion of such an animal, would, if it contained tubercle bacilli, be a source of danger, and that the use of such liquid or part ought to be prohibited or avoided. This being understood, we are in a position to enter without further introduction on the questions which require answers, some of which are pathological, or, if you prefer it, etiological, the others practical or administrative. The etiological questions relate to the three possible ways in which a human being may be infected by tubercle—namely, inheritance, pulmonary inhalation (atmospheric infection), and food (enteric infection). The practical issues are—(1) Is the risk to the individual consumer of such a nature that it can be detected and estimated? (2) Is it of such a nature that it can be counteracted? (3) Is the collective risk to which the community is exposed sufficient to demand the interference of the State? and (4) if it is, how can the State interfere with effect? I do not propose to discuss all of these questions myself, but I commend them to the attention of the Congress as questions which require discussion.

Of the two practical questions which concern us, which relate respectively to infection by milk and to infection by meat, the latter was very largely discussed at a congress on the subject of tuberculosis held in Paris in 1888, and has been again discussed very recently. In the first of these debates the medical profession did not take a very prominent part. The question whether the flesh of tuberculous animals is dangerous or not was regarded chiefly from the point of view of the veterinarian.

The reasoning employed by my friend M. Arloing in 1888 was straightforward and logical. Following out the principles enunciated

by another gifted pathologist, the late M. Tonssaint—that tubercle is a disease *totius substantiæ corporis*—he maintained that the time had come to act “*conformément à la logique*.” One out of every six carcasses had been shown, he said, to be infective when tested by administering it to animals as food. He calculated that over 1,000 persons joined in the consumption of every such carcass, and consequently that one-sixth of this number—that is, about 170 persons—must be subjected to the risk of infection for every animal sent to the shambles! If I thought that this reasoning were true; if it appeared to me that we could measure the danger to the human consumer by the prevalence of tuberculosis among animals used for food, irrespectively of other considerations, then I would heartily go in with M. Arloing in his practical deduction from it that, whatever interests conflict with public health must give way. It is our duty to insist on the right of science to dictate; but we must be careful not to do so until we have looked at the question from all sides and heard the whole evidence.

In some of these discussions it has not been sufficiently considered that the question is not whether the consumption of tuberculous meat is in itself attended with risk, but whether the prevalence of tuberculous diseases among ourselves is in any way due to the fact that we occasionally eat meat which contains bacilli. It is not sufficient to show that on the one hand there is a fearful mortality from tuberculous diseases, and that on the other there exists a cause to which this calamity might be attributed. It must also be shown that the effect is actually produced by the cause, in such sense that if the cause were removed we might hope that the effect would disappear. Are we or are we not in a position to say that, if the use of meat of tuberculous origin were effectually restricted, the prevalence of tuberculous diseases would be diminished? Before entering on this question, let me place before you very shortly the evidence as to the communication of tubercle to animals by feeding.

Twenty-three years ago M. Chauveau* fed three heifers with tuberculous material from the body of a cow, and obtained positive results. At that time the notion that tuberculosis is a virulent disease was new. M. Villemin had made his great discovery, but it had not yet been accepted; and consequently M. Chauveau's results were severely criticised, and were the subject of discussions which extended over several years (1868 to 1874), during which he repeated his observations, effectually silenced his opponents, and determined with the greatest exactitude all the conditions which are required to insure success in the experimental production of tuberculosis by feeding. About the same time Professor Gerlach,† also a distinguished veterinary pathologist, made similar experiments in Germany, which led him to advocate in the most energetic manner the restriction of the sale of tuberculous meat.

* Chauveau : Démonstration de la virulence de la tuberculose par les effets de l'ingestion de la matière tuberculeuse dans les voies digestives. *Bull. de l'Acad. de Med.*, xxxiii, 22. 1868.

† Gerlach : Die Uebertragbarkeit der Perlsucht d. Impfung u. Fütterung. *Jahresb. d. k. Thierarzneischule zu Hannover*. 1869.

These two initial investigations were followed by others far too numerous even to mention, of which an excellent summary is given by Dr. Wesener of Freiburg in his book on "Tuberculosis by Feeding," published in 1884. Up to that time the experimental work had been done almost exclusively by veterinarians, but it then acquired a new interest in its purely scientific relation to the etiology of tuberculosis; for the discovery of the tubercle bacillus had rendered it possible to investigate all the processes by which the tuberculous virus enters the organism, with an exactitude which was before unattainable. In 1884 Baumgarten* showed that a couple of ounces of milk, to which a pure culture of the tubercle bacillus had been added, was sufficient to produce characteristic tuberculous lesions in the intestine of a rabbit; and that the effect of such feeding was so constant, that by examining the animals so fed at successive periods, all the stages of the process could be thoroughly investigated, the most important result being that after a period of latency of about a fortnight, during which no traces of infection are visible, the lymphatic follicles of the mucous membrane and the mesenteric glands begin to enlarge simultaneously without any change whatever in the intestinal epithelium.

It was thus shown, with a precision which, as I have said, was not before attainable, that the initial phenomenon of tuberculosis is primarily proliferation of the adenoid tissue of the lymphatic system, and that the bacillus is capable of finding its way into the lymphatic system without leaving behind it any appreciable traces of its presence at the portals by which it has gained admission. Since 1884 our knowledge of the subject has been still further advanced by Cornil, under whose direction two very important researches, confirming and extending Baumgarten's results, have been recently published. These are indeed so complete that we may now consider that, so far as concerns the anatomical characters and development of the process, we are fairly informed; the main points being that when the tubercle bacillus is absorbed from the intestine it follows the course of the lacteals, and that the lesions which it produces correspond closely with those which present themselves in those rare instances in which it is possible to observe the first beginnings of enteric tubercle in the human subject.

It must not, however, be supposed that nothing further can be learnt by the experimental method. We still require a better knowledge than we at present possess of the conditions which determine its origin—information which can only be gained by observations on animals. According to those who regard tuberculosis as necessarily a disease *totius substantiæ corporis*, in which every part of the body is contaminated, all meat derived from the body of a tuberculous animal ought to be condemned, whether it appears healthy or not; for they argue that in every such animal, wherever the disease may be, bacilli circulate in the blood, and are thus universally distributed. Now it is not an adequate answer to this reasoning to say that it is exaggerated. Reasoning that is true can never be exaggerated. I believe that it is not true: that is, that we are not

* Baumgarten: "Ueber Tuberkel u. Tuberculose," p. 113.

entitled to assume that the flesh of every tuberculous animal is infecting, unless it be proved to be so. As against the probability of its being so, it is to be noted that the tuberculosis of cattle, although it is the product of the same bacillus, is, by comparison with tuberculosis in man, a disease of very slow progress. It localises itself in structures which are not essential to life—for example, the serous membranes—and may subsist in them for years without materially compromising the organs which they cover. When this is the case the nutrition may be so little interfered with that the animal can be readily fattened for the market. There is no doubt that the flesh of such an animal may be, to all appearances, in good condition, and may be offered for sale as meat of prime quality, and as yet we have no evidence that it is infecting.

Let us now turn from the source of infection to its effects; from the bacillus which we all admit to be the *materies morbi* to its field of disease and death-producing action.

From statistics we learn that in this and other countries tuberculous diseases contribute something like 14 per cent. to the total of deaths from all causes. We also know that during childhood, as distinguished from adult life on the one hand, and from infancy on the other, the tuberculous mortality scarcely amounts to a quarter of this percentage, whereas in infancy it only falls a little short of it, and in early adult life, it very far exceeds it.

This rough result of mortality statistics is only so far of value as it serves to draw one's attention to facts which are familiar to every clinical pathologist, namely—first, that there is a marked increase of liability to consumption (the representative form of tuberculosis in the adult) at puberty, and that this liability attains its maximum during the earlier years of adult life; and secondly, that many of the acute diseases of infancy acquire by their association with tuberculosis a fatality which they would not otherwise possess.

These are the obvious facts, and what we have now to inquire is whether the recognition of the consumption of meat derived from tuberculous animals, as a source of infection, serves to explain any of them.

As regards the mode of origin of pulmonary tuberculosis there are certain points as to which all pathologists are agreed. Before it was known either that tubercle could be communicated to animals, or that it was always associated with a particular microphyte, it was as clearly recognised as it is now that it spreads in the organs of the tuberculous person by a process in which healthy parts are infected from diseased parts; and accordingly we distinguished then, just as we do now, between primary and secondary lesions, and it was admitted that, in the adult, the respiratory organs are affected primarily. This doctrine has not been modified in consequence of the more exact observations of the twenty years which have elapsed since Villemin's discovery. In the ordinary form of phthisis, that in which the apex is the seat of the most advanced lesions, the disease begins in the form of disseminated nodules of broncho-pneumonia. That these may originate by the introduction, that is, the inhalation of particles suspended in the atmosphere in which

bacilli are contained, can scarcely be disputed, for we know that lesions which correspond with them in anatomical characters can be produced in animals with certainty by the inhalation of such particles, even though they are inhaled in very small quantity. But no proof exists that in every case what appear to be primary tuberculous nodules are products of inhalation. On the other hand, my own early experiments showed me that peribronchial nodules were among the most constant and the earliest of the lesions in artificial tuberculosis of guinea-pigs as produced by subcutaneous inoculation. In this case the virus is unquestionably not inhaled, but brought to the affected organ by the blood stream. There is reason, therefore, for supposing that however the blood stream is contaminated, the tubercle germ will find its way to the lungs, and to the part of the lungs which we know to be its habitual seat. This consideration might for a moment suggest that tuberculosis in the adult arises from enteric absorption—that is, from the ingestion of infected food—were it not that pathological experience very distinctly indicates the improbability of such a view.

As I have already stated, we have evidence that under certain conditions the virus of tubercle is absorbed by the lymphatic system from the small intestine in man, and that when this happens it gives rise to lesions of the same nature as those which are produced in animals by the injection of liquids in which bacilli are suspended, that is, to lesions which originate in the lymphatic system. Now, tuberculous disease of the intestinal mucous membrane, although very common, occurs very rarely in the adult and is not common even in infancy as a primary disease. In the adult we are familiar with it as an ulterior consequence of pulmonary consumption, and the way in which it occurs is very plain. In the advanced stages of that disease muco-purulent liquid is discharged in quantity from the softened parts. This material is charged with virulent bacilli, and infects the mucous membrane along which it passes, so that it is easy to distinguish bronchi which lead from vomicae, by the tuberculous nodules with which they are more or less beset. In advanced phthisis the sputum is so abundant that a certain proportion of it is from time to time swallowed. It produces no effect in the œsophagus or stomach, for along the former it passes too rapidly, while in the latter the mucous membrane is effectually protected by the gastric juice, which although it is incapable of devitalising the bacillus of tubercle, yet arrests its development. In the alkaline contents of the small intestine it finds a condition more favourable to its development, and is there absorbed, just as any other particle of similar size might be by the lymphatic follicles. It is by this process—and so far as can be learnt from pathological anatomy by this process alone—that tuberculous disease of the small intestine in the adult arises. It is always a secondary result of pulmonary phthisis.

In childhood the case is different. Tuberculosis does not begin to assert itself as a cause of death until the third month of extrauterine life, but after this there is good reason for supposing that the bacillus plays an important part as a cause of mortality. As to the extent to which

this is the case public statistics afford very inadequate information, for in infancy the greater number of the deaths which are caused by tuberculosis are returned under other titles. Hospital records, however, serve more or less completely to fill up the blank. From such sources we learn, first, that tuberculosis is more fatal in early childhood than during the period of lactation, and probably more fatal than in adult life; for one-third of the young children who die in hospitals die of tuberculous diseases. And when we inquire into the nature of these diseases we find that the organs primarily affected are first the lymphatic glands, and secondly bones, for although by far the largest number of deaths are caused by pulmonary tuberculosis, this disease usually presents itself in connexion with previously existing tuberculous disease of the bronchial glands. As regards tuberculosis of bone, it seems also to be made out from the observations of Dr. Müller* in the hospital at Munich, as well as from those of Lannelongue† in Paris, that it is in very many instances primary, so that we should probably not be far wrong in saying that, whatever may be the original mechanism of infection in early infancy, the lesions of bone and lymphatic glands are in the majority of instances primary, that is, antecedent to lesions of other organs, and that the reason why the acute infective diseases of infancy, particularly measles and whooping-cough, are followed by tuberculous broncho-pneumonia is not that bacilli are inhaled, but that the subjects of these diseases already carry in their bones or lymphatic glands foci of infection, which only require the aid of an acute disease to become generalised.

To the pathologist the question how latent tuberculosis of the lymphatic system or of bone originates—that is, how the bacilli which produce them are introduced into the blood stream—is one of great interest. I may as well confess it to be my own belief that in a certain proportion of cases these cryptogenetic tuberculoses are due to causes which operate before birth. It concerns the present inquiry only in relation to the infection of the lymphatic system by the lacteals. On this subject, notwithstanding that the terms intestinal phthisis and tabes mesenterica are often used as as if they expressed some well defined form of disease, further investigations are much wanted. The Munich statistics show that in less than half of the cases in which the lymphatic glands are found to be tuberculous, the affection has its seat in the mesentery, and that the mucous membrane of the intestine is tuberculous in a still smaller proportion—less than a quarter. In many of these cases the mucous membrane is no doubt affected consequently on tuberculous disease of the lungs, but in the remainder the disease appears to be primary. What is required is a careful investigation of this residue, for if it could be proved that such cases exist, the fact would afford clearer evidence than any we now possess of the enteric origin of tuberculosis. In the absence of such proof, human pathology has very little indeed to say in favour of the belief that human tuberculosis owes its origin to the consumption of tuberculous food, and even if it were

* O. Müller : "Zur Kenntniss der Kindertuberculose," München. 1889.

† Lannelongue : "De la tuberculose externe congénitale et précoce." Paris. 1887.

proved that the absorbents afford a channel of entry for the tuberculous virus in children, it would have little significance as regards the consumption of meat.

I hold, therefore, that in asking for the interference of the State, we must not base our demand on the ground that the community *actually suffers from the consumption of tuberculous meat*, the evidence that it is so being too weak to be insisted on; but, on the other hand, I maintain that the consumption of tuberculous meat is attended with some danger, and that on that ground its consumption ought to be watched over by the State and avoided by the individual.

This being admitted, the only question that remains is the administrative one. If we had to-morrow a law forbidding in express terms the sale of any meat containing the bacillus of tubercle, it could not be carried out unless those charged with its administration were able to distinguish such contaminated meat from healthy meat, so that the efficiency of the law would depend on the question whether the art of discriminating between infecting and non-infecting meat had attained to such perfection as to enable an adequately trained inspector to exercise his function with effect.

The practical result to which we have come is this. Everything turns on diagnosis. The Legislature might direct that all meat intended for consumption should be subjected to inspection, might appoint inspectors, impose penalties, and provide just and adequate compensation, but all this would be of no use unless the principles on which the discrimination of infecting from non-infecting meat is to be founded could be laid down, and the services of skilled persons of sufficient intelligence to apply them could be secured. We may consider it quite certain that in this country, at least, it would at present be extremely difficult to find such persons. Not that the veterinarian is less capable than the doctor of making a scientific investigation, but that he does not possess, and has as yet had no opportunity of acquiring, the sort of skill which is necessary for making what the French call the "*diagnose précoce*" of tuberculosis. Two things, in short, are required, neither of which we have at our disposal—special scientific knowledge and technical skill. In my judgment the former must be acquired first. Science must determine, much more definitely than has been done as yet, what are the earliest changes which have their seat in the parts of animals used for food, and which of these indicate danger to the consumer. This knowledge can only be acquired by experiments specially made for the purpose. Having been attained, it can only be applied by technically trained persons. I cannot better illustrate the sort of skill required than by comparing it to that possessed by the professional tea-taster as regards the commercial value of tea. I believe I am right in stating that the gustatory judgment of the tea-taster is so implicitly relied on that the largest transactions are regulated according to it. Why is the judgment of the expert reliable? It is because he is responsible for it and paid for it. It would be the same as regards the early recognition of tubercle in cattle, if skill and discrimination were paid for; and the moment that this skill is required it will come into existence. What is

wanted in the inspector is not that he should be a pathologist, or even a bacteriologist, but a trained expert ; for although the rules unconsciously used by him may be based on scientific principles, it is not by these principles he is guided in each case, but by practical skill.

For the convenience of discussion I have thrown the views I have ventured to express into the form of propositions, and will now ask permission to submit them to the Section :

1. There is no sufficient reason for supposing that in the human adult the introduction of the bacilli of tubercle by enteric absorption is the efficient cause of tuberculosis. In infancy a large proportion of the apparently idiopathic tuberculous diseases of the lymphatic system are probably due to the penetration of bacilli into the organism from the intestine ; but the evidence which we at present possess on this subject is not sufficiently precise or extended to serve as a basis for prophylactic action. For this reason the origin of tuberculosis in infancy is a subject which urgently requires investigation.

2. It has been proved that the ingestion of any material which contains the bacilli of tubercle is a source of risk to the consumer, but the conditions which limit this risk are insufficiently known. It would, therefore, be unjust to enforce the destruction of any specimen of meat apparently healthy, even though it were known to be derived from a tuberculous animal, excepting on evidence given by an expert as regards the particular case that it would be infecting if administered to test animals.

3. As regards the duty of the State in relation to the prevention of tuberculosis, what is immediately required is, first, that tuberculosis should be added to the list of diseases regarded by the law as contagious ; and secondly, that an efficient system of skilled inspection should be created. This is desirable, not merely as a first step towards the prevention of the sale and consumption of tuberculous meat, but as an indispensable means of acquiring better information than now exists. To be of use it must be carried out on the principles I have already set forth. It must be conducted by men of technical skill acting under scientific guidance.

In conclusion, I would beg you to notice that I have limited myself to the question of the consumption of meat. Although I have purposely left the milk question out of consideration, I have referred to facts which bear upon it. We have seen it to be exceedingly probable that about 40 per cent. of the children that die in hospital die tuberculous. I have already expressed my belief that in some of these cases the disease is congenital—that is, dependent on causes which have operated before birth. Some infants are probably infected by inhalation of the tubercle bacillus from the atmosphere, notwithstanding that pathology affords so little evidence of it ; but for the rest, notwithstanding the lack of satisfactory evidence, I cannot resist the conviction that the consumption of unboiled milk during the years which follow weaning must have its share in bringing about the fatal prevalence of tuberculous disease at that period of life. This being the case, I feel that, whatever course

may be taken as regards meat, I can join heartily with those who think that the sale of contaminated milk ought to be put a stop to by all possible means, and I trust that on this subject there will be no difference of opinion, and that this Congress will take such action as may promote the progress of legislation in this direction.

**Le Danger supposé de la Consommation du Lait et de la Viande
sains en apparence mais provenant d'Animaux
atteints de la Tuberculose.**

PAR

M. le Professeur BANG, Copenhagen.

[This Paper was originally contributed to SECTION III.]

La grande majorité des investigateurs sont d'accord que la source principale de la tuberculose de l'homme se trouve dans l'homme lui-même, mais presque tous admettent aussi que l'homme peut contracter la maladie par la consommation du lait et de la viande provenant d'animaux atteints de la tuberculose.

La question posée à l'ordre du jour a donc une valeur réelle. Elle a été traitée maintes fois, sans doute à chaque congrès international médical et d'hygiène, tenu pendant les derniers dix ans, mais elle n'est pas encore épuisée. On est d'accord qu'il existe un tel danger, mais sur l'étendue de ce danger il n'y a pas d'unanimité. Partant d'un point de vue absolu, on pourrait dire : cette question de l'intensité du danger n'a aucune valeur. S'il existe en réalité un danger pour la santé de l'homme dans la consommation du lait et de la viande provenant des animaux tuberculeux, il faut absolument interdire l'usage alimentaire de ces produits sans regard au degré du danger.

Cette manière de voir est très séduisante. C'est elle qu'on a suivie lors du premier congrès pour l'étude de la tuberculose tenu à Paris 1888, où l'on a voté avec une majorité énorme la saisie et la destruction totales pour toutes les viandes provenant d'animaux tuberculeux quelle que soit la gravité des lésions spécifiques trouvées sur ces animaux. Et à dater de la même année un décret du Président de la République française interdit simplement la vente et l'usage du lait provenant des vaches tuberculeuses.

Je conviens de la logique de ce raisonnement, si bien d'accord avec l'esprit français, mais d'autre part il ne faut pas oublier que l'application de mesures si sévères causera des pertes énormes à la fortune publique dans des pays où la tuberculose est très répandue parmi les bêtes bovines. Aussi il est bien connu que les Allemands, par exemple, ont toujours refusé de suivre de telles mesures. Et pour moi j'avoue que je regarde l'application des mesures françaises comme impossible—au moins pour le moment—dans des pays, où la tuberculose est très répandue, et de plus elle ne me semble pas nécessaire.

Pour *le lait* la question prophylactique pourrait sembler très facile à résoudre, si l'on disait : "Ne l'employez jamais sans l'avoir fait bouillir." Mais comment se protéger alors contre les produits du lait ?

Des expériences faites par Galtier et par moi même, par Heim et Gasperini ont prouvé que les divers produits du lait, le beurre, le bat-beurre, le fromage et le petit-lait peuvent contenir les bacilles de Koch, et que ceux-ci conservent leur vitalité dans de tels produits pendant 14-30 jours, et quelquefois même beaucoup plus longtemps (le fromage d'après Galtier jusqu'à plus de 10 mois, le beurre d'après Gasperini jusqu'à 120 jours). On peut, il est vrai, éliminer le plus grand nombre des bacilles du lait si l'on sépare la crème à l'aide du eentrifuge avant qu'on le baratte (comme on le fait généralement en Danemark), mais si le lait est très-riche en bacilles, quelques-uns resteront dans la crème.

Pour éliminer tout le danger qu'on suppose lié aux produits du lait et surtout au beurre, il faut donc exposer le lait ou la crème avant la fabrication du beurre à une température assez élevée pour tuer les baeilles de la tuberculose. Or mes expériences m'ont prouvé que l'échauffement jusqu'à 85 degrés eentigrades (et quelquefois déjà à 80°) tuent tous les bacilles de la tuberculose et que l'échauffement pendant 5 minutes à 70 degrés (quelquefois déjà à 60°) amène un tel affaiblissement du virus qu'il ne peut pas produire d'infection par les voies digestives. Aussi eette pasteurisation de la crème dans les dernières années est de plus en plus employée dans mon pays, surtout parce que cette méthode élimine en même temps bon nombre d'autres défauts du beurre.

Cependant cette méthode d'échauffement préalable ne sera pas sitôt employée partout, et quant au lait lui-même je erois que eela durera longtemps avant que tout le monde s'aceoutume à ne jamais le boire avant de l'avoir fait bouillir, parce que bien des personnes n'aiment pas le goût du lait bouilli. Ce sera donc toujours une question de beaucoup d'intérêt que de savoir si en réalité le lait des vaches phtisiques est dangereux dans la majorité des cas.

J'ai fait sur cette question des essais assez nombreux, pour la plupart desquels j'ai eommuniqué les résultats au premier Congrès de la tuberculose et au Congrès international médical à Berlin. Quand la mamelle est affectée, le lait contient toujours un nombre généralement très grand de baeilles, et par conséquent un tel lait est toujours très dangereux. Mais la tuberculose mammaire n'est pas si extrêmement commune eomme on l'a dit quelquefois. A l'abattoir de Copenhague, par exemple, on ne l'a trouvée que chez un peu plus de 1 p. et. des bêtes phtisiques.

Voici le résultat des recherches que j'ai publiées auparavant sur la virulence du lait séercté par une vache atteinte de tuberculose généralisée, mais dont la mamelle était saine :

De 28 telles vaches j'ai inoculé le lait sur 48 lapins, et parmi ce nombre je n'ai trouvé que deux dont le lait révélait des propriétés

virulentes. Après j'ai inoculé sur 40 cobayes le lait de 21 vaches phthisiques, et parmi ce nombre j'ai trouvé 4, dont le lait se montrait virulent. Récemment j'ai fini une nouvelle série de telles recherches, comprenant le lait de 14 vaches extrêmement phthisiques. Cette fois le résultat est un peu plus défavorable, le lait se montrant virulent dans 3 cas. Le résultat de toutes mes recherches est donc celui que parmi le nombre de 63 vaches tuberculeuses j'ai trouvé 9 dont le lait offrait des qualités virulentes.

Ces chiffres paraîtront peut-être peu rassurants, mais il ne faut pas oublier que presque toutes les vaches étaient affectées à un très haut degré. De plus quelques-unes avaient en réalité déjà une affection tuberculeuse dans la mamelle, encore pas assez développée, il est vrai, pour être constatée sur l'animal vivant—comme je l'ai trouvé dans 3 des 4 cas positifs de ma deuxième série. D'autres offraient une tuberculose miliaire aiguë dans différents organes, ce qu'on ne trouve que rarement chez une vache fournissant du lait. Dans un cas enfin j'ai trouvé les glandes lymphatiques supramammaires affectées de tuberculose, quoique je n'aie pu constater des lésions dans la mamelle elle-même.

Dans plusieurs de mes cas positifs le nombre de bacilles contenus dans le lait doit avoir été très petit parce que l'un seulement des deux cobayes inoculés est tombé malade, comme je l'ai trouvé dans un cas de ma deuxième série et dans 2 de ma troisième série.

Il faut ajouter que la quantité du lait injecté a été plus grande dans ma dernière série qu'auparavant. Dans les deux premières séries je n'ai injecté que 1-3 centimètres cubes, dans la dernière 5-10. Et par hasard la plus grande quantité a été injectée dans des cas négatifs.

Quoique ma dernière série d'expériences ait donné un peu plus de cas positifs que les autres j'ose donc encore maintenir l'opinion que j'ai émise auparavant, c'est à dire, que le lait d'une vache phthisique à mamelles apparemment saines n'est pas dangereux dans la grande majorité des cas. Il l'est sans doute dans quelques cas, et par conséquent il est toujours *suspect*.

Il faut donc toujours prendre des mesures prophylactiques contre son usage alimentaire, mais il ne faut pas exagérer le danger comme on l'a fait quelquefois.

LA VIANDE.

La viande elle-même ne contient de tubercules que dans des cas très rares. Néanmoins il a été prouvé par des expériences assez nombreuses que le suc musculaire peut contenir les bacilles de la tuberculose. Mais il résulte des expériences de Chauveau et d'Arloing, de Peuch, de Galtier, de Nocard et de Kastner que les cas positifs sont absolument dans la minorité. Parmi 73 vaches phthisiques ces auteurs ont trouvé 10 seulement dont le suc musculaire se montrait virulent par l'injection à des lapins ou à des cobayes, et quelquefois le suc inoculé n'a pu produire la maladie que chez un seul de plusieurs animaux inoculés. Les expériences très intéressantes que M. Nocard a communiquées au premier Congrès de la tuberculose ont donné l'expli-

cation de l'inconstance des résultats obtenus. Quand il eut injecté dans la veine de l'oreille des lapins une culture très riche en bacilles il n'a trouvé le suc musculaire de ces animaux virulent que quand il les sacrifia pendant les cinq premiers jours après l'inoculation. Les bacilles importés dans les vaisseaux des muscles ne conservent donc leur vitalité que pendant 5 jours. Si l'on joint à ce résultat expérimental l'observation déjà nommée qu'il ne se développe presque jamais de tubercules dans le tissu musculaire pendant le développement d'une tuberculose généralisée il faut conclure que le tissu musculaire est un substrat si défavorable pour les bacilles de la tuberculose qu'ils ne se *multiplient* pas dans cet endroit. Le nombre des bacilles qu'on peut trouver dans la viande des animaux tuberculeux sera donc toujours très limité.

C'est bien vrai comme l'a objecté M. Arloing à M. Nocard que le système circulatoire d'un animal tuberculeux peut recevoir à chaque instant une injection de bacilles, et conséquemment quelques minutes peut-être avant qu'il soit sacrifié. Mais il ne faut pas oublier que c'est seulement dans des cas où il se développe une tuberculose miliaire aiguë qu'on peut supposer que le nombre de bacilles introduits dans les vaisseaux soit considérable. Dans les cas communs où la tuberculose se développe lentement les bacilles seront sans doute versés dans le sang à très petites doses, et le nombre de bacilles qu'on peut trouver à un moment donné dans la viande sera donc minime. Et les expériences de Galtier, de Gebhardt et d'autres rendent du moins vraisemblable que l'infection se fait avec moins de facilité par les voies digestives que par l'injection, et que le nombre des bacilles introduits a une influence assez considérable sur le résultat obtenu.

Personnellement je n'ai pas fait d'études sur la viande des animaux tuberculeux, mais j'ai fini récemment une série d'expériences sur *la virulence du sang* des vaches extrêmement tuberculeuses, question liée assez étroitement à celle discutée à présent. J'ai inoculé à 38 lapins et à 2 cobayes le sang défibriné de 20 vaches. L'inoculation est faite par injection dans le péritoine et la dose a varié dans la plupart des expériences entre 10-18 centimètres cubes, 4 fois seulement elle n'a été que 5-9 centim. cubes. Voici le résultat. Il fût négatif dans 18 cas, positif dans 2. Et dans ces deux cas ce fût l'un seulement des deux lapins inoculés qui offrit des lésions tuberculeuses, dans l'un du reste très insignifiantes. La vache qui dans l'autre cas avait donné le sang virulent, était atteinte d'une tuberculose miliaire aiguë qui s'était développée après l'injection de tuberculine. Trois semaines auparavant et avant cette injection j'avais inoculé le sang de cette même vache, et alors il s'était montré inoffensif. Il y a du reste raison d'ajouter que parmi les cas négatifs il se trouve plusieurs cas de tuberculose miliaire aiguë.

M'appuyant sur ces expériences et sur les réflexions que je viens de proposer je tire la conclusion que la saisie de la viande de tout animal tuberculeux est une mesure trop sévère. Tant que la tuberculose est vraiment localisée la viande ne peut offrir aucun danger. Quand la maladie est généralisée la consommation de la viande peut être dangereuse

quoiqu'elle ne le soit pas toujours. C'est par conséquent la saisie restreinte qu'il faut adopter ou plutôt maintenir, parce que c'est celle-là qui est jusqu'à présent le plus généralement employée.

Une inspection de la viande bien réglée n'existant pas encore partout, pour diminuer le danger qui peut être lié à la viande tuberculeuse, il y a encore raison de maintenir la conclusion formulée par M. Vallin lors du Congrès de la Haye : il faut restreindre au lieu d'encourager l'habitude de manger les viandes rôties sanglantes.

Avant de finir je voudrais bien faire remarquer que le meilleur moyen d'éliminer le danger pour la santé de l'homme, danger dont nous parlons à présent, sera celui de combattre par toutes les mesures possibles (l'isolement, l'abatage etc.), la propagation de la tuberculose chez nos animaux domestiques.

On the Transmission of Tuberculosis from Animals to Man, by means of Flesh and Milk derived from Tuberculous Animals.

BY

Professor MCFADYEAN, M.B., BSc., and G. SIMS WOODHEAD, M.D.

[This Paper was originally contributed to SECTION III.]

The evidence as to the transmission of tuberculosis from animals to man through flesh or milk is very conflicting, apparently in great part because the methods used are different and the conditions are not uniform. It is now admitted on all hands that human and bovine tuberculosis are identical diseases in the sense that they are caused by the same parasite, and no well informed person at the present time denies that it would be dangerous to consume animal flesh containing tubercle bacilli. The real matter in dispute at the present time is the distribution of the tubercle bacilli throughout the system of an animal that is the subject of tuberculosis.

In the following notes we have not attempted to deal comprehensively with the whole question, but have attempted rather to follow a line to which we think attention has not hitherto been sufficiently directed. Some years ago, one of us (Woodhead)* in the course of an examination of a considerable number of cases of tuberculosis in children, found that in 127 of such cases analysed, tubercle of the intestine was present in 43, 24 of these occurring between 1 and 5½ years. Only one occurred during the first year of life. From 6 to 7½ years there were 7 cases, and from 8 to 15, 11 cases. Tubercle of the mesenteric glands was found in 100 cases, or in nearly 79 per cent. of the whole. Here again 62 of these occurred between 1 and 5½ years; and of 14 cases in which the mesenteric glands were primarily affected (*i.e.*, no trace of tubercle could be found in any other part of the body), nine were referred to this

* Laboratory Reports, Royal College of Physicians, Edinburgh, 1889, Vol. I., p. 181.

period. It was noticeable that of the 100 cases, only 20 were diagnosed during life as suffering from abdominal tubercle, from which it may be argued that *tabes mesenterica* is of much more common occurrence than is generally supposed. From all that could be learned from these cases (and reference might be made to a large number of other sets of statistics proving practically the same point) it is evident that intestinal and mesenteric tubercle are most frequently met with in children during the period after they are weaned; at which time cow's milk has been substituted for mothers' milk. (Hitherto only some thirty cases of mammary tuberculosis of the human subject have been recorded.) The point of entrance appears in these cases to be by the intestine, and if it could be at once accepted that such is the case, all could be readily enough explained. It has been stated that tubercle cannot make its way into the tissues without leaving some local evidence of its invasion, but we are of opinion, after a careful examination of a large number of cases, that in some at least the tubercle bacilli have passed from the intestine into the mesenteric glands without leaving any trace of a primary lesion to indicate their point of entrance. It has to be remembered that here the tissues are not in any way injured, as in most experimental cases, but have simply their vitality impaired, so that they can no longer act as a defensive barrier. Experiments carried on by distinguished members of this section, Chauveau, Bang, Nocard, Bollinger, Johne, and others, some of which experiments have been repeated by us, have all gone to prove the existence of active tubercle bacilli in the milk from tuberculous cattle; one of us (McFadyean) obtained such bacilli in the epithelium of the milk ducts, or actually lying free in the ducts, after the death of the animal. It may be accepted therefore, that wherever the presence of tuberculous disease of the udder can be determined clinically it must be little less than criminal to give the milk to delicate children, or even to children suffering from any catarrhal derangement of the intestinal canal—conditions which are specially frequent amongst the poorer classes where the standard of health is exceedingly low and the liability to catarrhal conditions very great. A number of other experiments have been made to determine whether the milk from cows in which there is undoubtedly tuberculosis, but in which there is no clinical evidence of local disease in the udder, was infective. Here the results are much more conflicting; but although the results in many cases have been negative, every observer has been able to obtain positive results in a certain proportion of cases, and although the percentage of such cases is comparatively low, it is large enough to accentuate the feeling which most people who have studied the question have, that it is absolutely necessary that precautionary measures should be taken before using milk that comes from an unknown source.

From our own inoculations with tuberculous udder, and with milk from tubercular udders, 14 out of 19, or over 70 per cent. were attended with positive results; with non-tubercular udders and with milk from otherwise tuberculous cows, two cases (one milk, one udder) out of 13 in all, or a little under 16 per cent., gave positive results. This series is not yet completed and all the animals fed with the same material, have not yet been killed.

In the cases of inoculation the following points must be observed; where the animals inoculated with milk became tubercular, we found that when scraps of the udder tissue were introduced into the subcutaneous tissue only, the results were without exception positive. Where the failure to produce tuberculosis occurred, when milk was used, the number of bacilli was invariably small, in some instances several cover glasses having to be carefully searched before a bacillus could be found. The inoculations that failed were usually those into the subcutaneous tissue, though in certain cases in which the milk was introduced into the peritoneal cavity, negative results were also obtained.

Here two rather important points in relation to the danger of taking tuberculous milk by the human subject come in for consideration, (1) site of infection and (2) relation of the number of bacilli introduced to the severity and rapidity of the course of the disease. As regards the number of tubercle bacilli that are necessary to set up a tubercular lesion, the results up to the present are somewhat unsatisfactory. Wyssokowitsch (Munch. Med. Woch., October 1890 p. 706) refers to a series of experiments carried on, in which he injected from 8 to 150 bacilli subcutaneously, intraperitoneally, and intravenously, as a result of which he was able to corroborate Hirschberger's and Gebhardt's (Virch. Arch. Bd. 119, 1890, p. 127) statement that the fewer the bacilli the more slowly is the disease developed in guinea-pigs, but he found that rabbits inoculated subcutaneously with from 8 to 40 tubercle bacilli invariably gave negative results, but that when from 20 to 30 bacilli were introduced into the veins, small hard nodules were formed, which he regarded as tubercular in character. Grancher and Ledoux Lebard (Arch. de Med. exper. et d'anatomie Path. I serie, t. III., 1891. No. 2, p. 145) made a series of experiments on rabbits in order that they might determine the different effects when the tubercle was introduced subcutaneously, intraperitoneally and intravenously, and they found that the rapidity of the infection was most rapid with the intravenous method, and slowest with the subcutaneous. They also by some very accurate experiments arrived at the conclusion that after taking the point of inoculation into consideration, the rapidity of the development of the disease varied directly according to the number of bacilli primarily introduced. Gebhardt (*loc. cit.*), using the milk of tuberculous cows, found that the danger of infection was very considerably diminished by dilution with sound milk, and his well-known experiments with series of dilutions of 1 to 40, 1 to 50, and 1 to 100, the ingestion of all of which was attended with negative results, were controlled by a series made with sputum and pure cultures of tubercle bacilli. He found that the dilution of 1 in 10,000 was still pathogenic when injected subcutaneously and intraperitoneally, and also when inhaled, but that when ingested it was no longer dangerous when only diluted eight times. Our experience accords with this. Inoculation into the peritoneal cavity is much more certain than inoculation into the subcutaneous tissue, especially where the number of bacilli introduced is comparatively small. In the same way, from a number of feeding experiments we are led to conclude that the production of tuberculosis through introduction of

baeilli into the alimentary canal is of still less frequent occurrence than when inoculation is made into the connective tissue, as here the percentage of cases in which we have obtained positive results has hitherto been not only below the proportion of positive results from inoculations into the peritoneal cavity, but much lower even than in the case of subcutaneous injection. However, we do not wish to speak positively on this point until we have examined a larger number of cases.

From the results obtained by all observers, there can be little doubt that the milk obtained from tuberculous animals may be instrumental in communicating the disease from animals to man, and that there is great necessity for legislation on this question. (1.) The first thing to be insisted on is that a regular staff of veterinary inspectors, well trained for this special work, shall be appointed, whose duty it must be to examine *fortnightly* all the cows giving a milk supply, and who should have the power to order isolation of all cattle in which the presence of tuberculosis is suspected. (2.) In the second place it should be a penal offence for any dairy farmer to throw into his milk-supply the milk from any cattle which may have isolated by the veterinary inspector. (3.) No phthisical patient should be allowed to take charge of any department in a dairy. For the general regulations those drawn up by Professor Ostertag are so complete and so admirable in every way that our imperfect sketch may well be deleted.

Is it dangerous to eat the flesh of a tuberculous animal? To this question some give an unqualified answer in the affirmative, maintaining that bovine tuberculosis is a disease *totius substantiæ*, that the eating of any portion of an animal so affected must be attended with danger, and that in all probability a large proportion of cases of human phthisis have their origin in the consumption of flesh from tuberculous animals—in other words, that “human phthisis comes frequently from the butcher’s stall.” On the other hand, many believe that in the vast majority of cases, bovine tuberculosis is a local disease, that the public health would be sufficiently safeguarded if only the visibly diseased parts and their lymphatic glands were withdrawn from consumption, and that not more than a comparatively small proportion of cases of human tuberculosis can with any reason be ascribed to infection through the eating of flesh from tuberculous animals.

The opinion that the consumption of tuberculous flesh is a main cause of tuberculosis in man is held by very few human pathologists, and indeed it appears to be negatived by every consideration bearing on the point. In an overwhelming number of cases of human tuberculosis, the disease has its primary seat in the lungs and bronchial glands, and countless experiments prove that such a localisation of the lesions clearly indicates that the virus has penetrated by the respiratory mucous membrane. Only those cases in which the primary lesions are seated in the alimentary canal or its associated lymphatic glands can reasonably be ascribed to infection by means of baeilli contained in the ingesta; and even when the lesions have this distribution it by no means follows that the infection has had an animal source, for human beings are undoubtedly exposed to the risk of contracting the disease

through the ingestion of tubercle bacilli that have been expelled from the bodies of tuberculous patients of our own species.

The main cause of human phthisis must undoubtedly be sought elsewhere than in infection from the lower animals; but while that is admitted, the possible transmission of the disease by means of butcher's meat is a sanitary question demanding the most careful consideration. There can, of course, be no discussion regarding the necessity of condemning the visibly diseased parts of such an animal, but beyond that point opinion is much divided. It is impossible to seriously maintain that tuberculosis is never a strictly local disease; but many contend that in a large proportion of cases of bovine tuberculosis in which the discernable lesions are confined to one organ and its lymphatic glands, the bacilli are present throughout the entire system of the animal, and that, given a tuberculous lesion in any part of the body, it is never possible to assert on inspection of the carcass that the agents of infection have not already invaded the whole body by means of the blood stream. Those who hold this opinion advocate what for brevity's sake is termed "total seizure," that is to say, they wish to see the entire carcass of an animal condemned as unfit for human food whenever a tuberculous lesion, no matter how circumscribed its apparent limits, is discovered in any part of the body. Any measures short of total seizure are declared to be unsafe, inasmuch as they do not exclude the possibility of tubercle bacilli being sold in what the consumer purchases as healthy meat.

The evidence bearing on this important point may be said to be of two kinds, viz., (1) that derivable from the observed distribution of the lesions in cases of bovine tuberculosis, and (2) that afforded by experimentation.

Before proceeding to estimate this evidence, it may be advisable to emphasise the fact that the dispute is not whether in the case of cattle tubercle bacilli are never distributed throughout the entire system in the blood stream, but whether such a distribution is of common or constant occurrence. Let us review briefly in the first place the experimental evidence.

With a view to ascertaining whether in any given case of tuberculosis there has been a general invasion of the system, one may have recourse to experiments with the blood or with the solid textures of the body, notably the muscles. We pass over the microscopic search for the bacilli, for that is admittedly unreliable. To test the infectivity of blood or muscle tissue, we may introduce these into the body of a highly susceptible animal, such as the guinea-pig or rabbit. This may be effected by means of the alimentary canal, or by subcutaneous, intravenous, or intraperitoneal injection. The last of these is probably the most delicate test at our command, and it is that which has been employed in most recent experiments.

The published experiments with blood taken from tuberculous cattle are not numerous, and in some of the cases in which positive results were obtained their importance remains doubtful, because it is not stated whether sufficient precautions were taken to exclude the

possibility of accidental contamination. The favourite method of experimentation hitherto has been with muscular tissue or the juice extracted from it, and there are already on record a fairly large number of experiments of this kind. The three largest series of experiments have been made by Bollinger, Nocard, and Galtier. Bollinger found the juice expressed from the muscular tissue non-infective in all the carcasses examined, 12 in number. Nocard found it once infective in 21 experiments. Galtier found it infective six times out of 25. Taking the combined experiments, a positive result was obtained in seven out of 58 carcasses examined (12 per cent.), and it is worthy of note that in most of these experiments the lesions present in the carcass were very extensive. It is also deserving of remark that Galtier obtained a much greater proportion of positive results than the other two experimenters, although it does not appear that the carcasses examined by him were more extensively diseased than those employed by Bollinger and Nocard; a doubt is thereby raised as to whether some of Galtier's positive results were not due to accidental infection. Unless the strictest precautions are maintained throughout the whole course of such an experiment (and this is not specially stated regarding Galtier's experiments) a positive result is deprived of all its importance.

The experiments cited and some that we have ourselves carried out go to prove that, in the great majority of cases of bovine tuberculosis, the expressed muscle-juice is free from tubercle bacilli, or does not contain a sufficiently large number of them to set up tuberculosis, even when it is introduced into the peritoneal cavity of such sensitive animals as the guinea-pig or rabbit. On the other hand, they indicate that tubercle bacilli may sometimes be present in the apparently normal muscular system.

A consideration of the distribution of the lesions in bovine tuberculosis conduces to the same conclusions. Lesions indicating a transport of the bacilli by the blood stream are found in only a small proportion of cases, but it cannot be denied that tuberculous disease is now and again to be met with in the muscular system, even when most of the viscera of the body appear normal. Of three cows slaughtered in one day at one slaughter-house, two were found by one of us (W.) to have distinct tuberculous lesions in the muscles of the buttocks; in one of these there was tuberculosis in almost every organ of the body, but in the other there were only a few nodules in the lung and in some of the glands.

In the brief time at our disposal we have attempted to indicate the available evidence regarding the distribution of tubercle bacilli in the carcasses of tuberculous cattle. It may now be asked what rule should be laid down for the guidance of meat inspectors in dealing with this disease? The International Congress for the study of tuberculosis in man and animals, held in Paris in 1888, voted in favour of total seizure, and a similar resolution was passed by the International Veterinary Congress which met in the same city in 1889. Notwithstanding these declarations in favour of total seizure, that practice, we believe, is nowhere followed out as yet, and where meat is not consumed

raw, there is probably no appreciable risk in passing for consumption the entire carcase when the lesions are confined to one organ and its lymphatic glands. In Great Britain at any rate, we are as yet at a stage which makes it of little moment whether we declare for total or for partial seizure, inasmuch as we have no adequate machinery to carry out total seizure if that were thought to be necessary in the interests of public health.

Further, we are of opinion that in all cases one of two sets of conditions must be present in order that tuberculosis may be set up by the ingestion of tuberculous meat or milk. If the number of bacilli be small, they can have but little pathogenic effect on the tissues of a healthy intestinal canal, *i.e.*, it is necessary that there should be a "predisposition" to the disease. If, however, the number of bacilli ingested be large, such predisposition is not essential, the invading forces being sufficiently strong to carry all defences.

Sur l'Utilisation des Viandes des Animaux tuberculeux.

PAR

le Prof. E. PERRONCITO, Turin.

J'ai voulu faire sur cette importante question encore quelques séries d'expériences outre celles que j'ai faites dans l'année 1875.* La viande venait de l'abattoir de la ville de Turin et appartenait à des bovidés tuberculeux à différents degrés, qui avaient été sequestrés par les vétérinaires de la ville.

J'ai fait trois séries d'expériences.

Dans la première la viande était donné à des jeunes porcs, et plus de 14 cochons ont mangé de la viande des bovidés tuberculeux, pendant trois, quatre, mois ou plus, sans qu'ils eussent présenté ensuite les symptômes ou, à leur autopsie, les lésions de la maladie.

Avec de la viande j'ai préparé du suc pur ou l'ai mélangé avec un peu d'eau. Ensuite je l'ai inoculé sous la peau et dans la cavité péritonéale d'un grand nombre de lapins et de cobayes (plus de 200). Les animaux ainsi opérés ont été conservés un mois et demi, deux mois, trois mois et davantage encore sans qu'aucun présentât les symptômes, et à l'autopsie les lésions de la tuberculose.

A deux vaches j'ai inoculé du même suc de viande sous la peau en arrière de l'épaule droite. Les mêmes vaches ont été tenues vivantes plus de cinq mois sans qu'elles eussent présenté à l'autopsie les lésions de la tuberculose.

A quatre cochons de l'âge de six mois j'ai fait manger pendant plus de quatre mois, de la viande de bœufs et de vaches tuberculeuses; à

* E. Perroncito.—La tuberculose en rapporto coll' economic rurale e sociale. Annali della R. Accademica di l' Agricoltura di Torino. 1878,

deux pores de race anglaise, avec la viande d'animaux tuberculeux j'ai fait manger aussi en plusieurs fois une quantité notable de nodules tuberculeux sans obtenir la transmission de la maladie.

L'immunité acquise par la vaccination charbonneuse préserve-t-elle de la tuberculose ?

Ceci est une question que je me suis faite plusieurs fois après avoir observé que dans les lieux où on a introduit la vaccination charbonneuse la tuberculose a fortement diminué.

Plusieurs propriétaires qui avaient chaque année des cas de charbon et de tuberculose ont recouru à la vaccination charbonneuse et on a crû voir disparaître la tuberculose avec le charbon.

Dans le but de voir si l'immunité acquise par le charbon était défavorable au développement de la tuberculose j'ai procédé aux expériences suivantes.

J'ai vacciné et ensuite saturé avec du virus charbonneux sous la forme de spores et de bacilles deux vaches parfaitement saines et robustes de l'âge de quatre à cinq années pour obtenir une immunité artificielle et complète, et j'ai inoculé ensuite aux deux vaches des bacilles de la tuberculose.

Après un mois et demi et deux mois les deux ont été tuées sans présenter aucune lésions de la tuberculose.

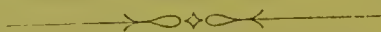
Une vache avec tuberculose thoracique a été vaccinée et ensuite saturée avec du virus charbonneux. Après quelque temps la vache a paru saine ; un veau parfaitement sain soumis à l'allaitement de la même vache a présenté après trois mois les symptômes d'une tuberculose transmise.

Quatre lapins bien choisis et très forts ont été rendus réfractaires au charbon.

Seize jours après l'inoculation du virus, j'ai inoculé la tuberculose.

Un mois après, on constatait un nodule au point de l'inoculation et le ganglion lymphatique correspondant était grossi. A deux des quatre lapins j'ai inoculé le virus charbonneux pur en culture dans du bouillon. Les deux lapins moururent de vrai charbon, après quarante-deux et cinquante heures.

Dans ces deux lapins l'immunité par le charbon a disparu après un et deux mois. L'autopsie a démontré dans les deux lapins une transmission de la tuberculose, mais fort limitée—probablement à cause de l'immunité acquise auparavant par le charbon.



DISCUSSION.

Professor Hamilton (Aberdeen) said :—One of the chief objects of the discussion is to ascertain in what manner the tubercle bacillus gains entrance into the body. The two channels by which this is effected are the respiratory and alimentary passages.

There is a class of tuberculous lesions, however,—local tuberculosis occurring in organs and tissues—having little, if any, direct connexion with the outer world. In each case certain characteristic lesions result. In the lung these are chiefly three, namely, tuberculous pneumonia, disseminated miliary tubercle, and lymphatic tubercle. In the case of the intestine, the mucous membrane is in some instances diseased; in others, the peritoneal coat is the chief seat of the tubercle while the mucous membrane remains healthy. The former lesion usually accompanies pulmonary phthisis; the latter not necessarily so.

In accounting for these various lesions at the portals of entrance of the tubercle bacillus, the following may be admitted. Tubercular pneumonia is the result of the inhalation of the bacillus, and its deposition in the air vesicles; miliary tubercle of the lung is almost always the result of absorption of the bacillus from a focus of infection in some other part of the body, while the lymphatic form of pulmonary tubercle is caused by the bacillus getting into the interstitial tissue of the organ through the pulmonary absorbents. In the case of the intestine, the cause of the tubercle fixing itself upon the mucous membrane is in all likelihood that the resistance of that membrane has been lowered by previous disease; while the cause of its invading the peritoneum as a primary disease probably is that the bacillus has been absorbed by a mucous membrane as yet healthy.

Where tuberculosis manifests itself within internal organs not immediately communicating with the outer world, the explanation most likely is that the tubercle bacillus, like carbon particles, are from time to time admitted into the system and fix themselves upon those organs previously weakened by disease.

He drew attention, in conclusion, to the comparative immunity enjoyed by the pericardium and stomach against tuberculosis.

Professeur Nocard dit :—Je viens appuyer les conclusions de nos Hon. Collègues Bang et MacFadyean. Comme l'a dit M. Arloing, depuis tantôt dix ans, dans tous les Congrès, nous avons combattu, lui et moi, dans des camps opposés. Lui était le chef des partisans de la grand sévérité, moi je luttais pour la modération, sans aucun succès d'ailleurs, je dois le reconnaître.

Je vous demande la permission de vous exposer rapidement les raisons de mon attitude.

Pour réclamer la *saisie totale* des viandes tuberculeuses, on se base sur le raisonnement suivant :—

1. L'ingestion de matières tuberculeuses est un moyen efficace de donner la tuberculose.

2. *L'injection dans le péritoine* du jus de viande provenant d'animaux tuberculeux donne quelquefois, rarement, la tuberculose aux cobayes.

3. Donc, ces cobayes seraient devenus tuberculeux s'ils avaient mangé cette viande au lieu d'en recevoir le suc dans le péritoine.

Un pareil raisonnement ne suffit pas pour retirer de la consommation de très-grandes quantités de bonne viande. Il faudrait citer des faits expérimentaux prouvant que, quelquefois au moins, l'ingestion de ces viandes a donné la tuberculose. Or je ne connais pas un seul fait de ce genre,—je parle d'un fait réalisant toutes les conditions d'une bonne expérience.

Gerlach, Jöhne, Veyssière, Peuch, dont on invoque les expériences, ne semblent pas avoir pris soin de soustraire la viande ingérée à la souillure

par des *liquides virulents* (pus, jetage, mucosités bronchiques ou autres, etc.), ou d'en avoir extrait les ganglions qui sont si souvent farcis de tubercules ; seul, Peuch déclare que la viande mise en expérience avait été désossée : la mention de cette précaution prouve nettement que les autres, tout aussi nécessaires pour que l'expérience fut décisive, ont été négligées. Dans ces conditions, les expériences dont il s'agit rentrent dans le cadre de celles où la tuberculose a été provoquée par l'ingestion de *produits tuberculeux*—expériences que personne ne conteste—et l'on ne saurait s'en prévaloir pour réclamer une extrême sévérité.

Depuis plusieurs années, j'ai fait de nombreuses expériences à ce sujet ; la difficulté tient à ce que le cobaye, le meilleur réactif de la tuberculose, mange avec répugnance de la viande crue ; mais on peut expérimenter avec les jeunes chats qui sont, eux, très-amateurs de viande crue ; et l'on sait, depuis Viseur, que les jeunes chats sont très-aptés à contracter la tuberculose par ingestion. Eh bien ! toutes les expériences que j'ai faites ont été négatives ; le détail en serait fastidieux. Je n'en rappellerai qu'une, déjà citée au Congrès de la tuberculose de 1888.

Ella a trait à 4 petits chats dont chacun a pu manger, sans devenir tuberculeux, plus d'un demi-kilog. de viande crue, dont le suc avait rendu tuberculeux 1 des 4 cobayes inoculés par injection intrapéritonéale. Cette viande renfermait donc des bacilles tuberculeux ; mais ils étaient en si petit nombre qu'ils n'ont pas pu germer dans le tube digestif qui constitue un milieu infiniment moins favorable que le péritoine.

Je sais que mes collègues Galtier de Lyon, et Perroncito de Turin, ont obtenu des résultats analogues.

C'est pourquoi, si je suis partisan d'une très-grande sévérité pour ce qui concerne le lait, si dangereux, surtout pour les petits enfants, je suis au contraire partisan d'une très-grande modération pour ce qui concerne l'inspection de la viande.

Dr. Hime (Bradford) said that they had heard details of experiments made with the sputum of consumptive patients, and with tubercular material injected into the veins, into the peritoneal cavity and elsewhere. But the question under discussion was not this—but as to the effects of eating meat apparently healthy, obtained from animals apparently healthy (from animals which had not died of tuberculosis, but which had been slaughtered in apparently perfect health), not injected into the veins or eaten raw, but eaten after being cooked. This latter was an entirely different question. His remarks would mainly be addressed to the English members, as he was glad to acquiesce in the views of the foreign members. They were practical men, and brought experiments before us of great importance, such as in this country unfortunately could only be carried out under the greatest difficulty. He would not refer to the question of the contagiousness of tubercle—that was now removed from the ground of discussion—but he wished to remind the meeting that the vast number of cases of tuberculosis in man were beyond all doubt due to infection from man to man, by inhalation, and certainly not to the consumption of any kind of food. Undoubtedly tuberculosis of the lung was by far the commonest form among men, and it appeared to him unreasonable to assume that any considerable number of these cases was due to tubercle virus which had been consumed with the food. The agitation in this country seemed an echo of that started by the Congress of Veterinary Surgeons in France (not a Congress of medical men), and was mainly due to the unfortunate Departmental Report of a Committee of Parliament on

tuberculosis in animals issued by our Parliament. That committee was not appointed to consider the complicated and difficult question before this meeting, but the existence and mode of extension of tuberculosis among *cattle*, and also the question of compensation. It was composed mainly of landed proprietors and gentlemen concerned with anything but scientific inquiries. Dr. Lingard's evidence as to his experiments with "caseous material" before that Commission had been tacitly transferred by a member of the commission to the credit or discredit of meat; and the results obtained with the one by injection were assumed to have been obtained with the other after cooking and digestion. No country in the world has by legal enactment permitted "total seizure" of animals apparently healthy, slaughtered for food, but found to have local tuberculosis after slaughter. The French Government within a few days of receiving the resolution of the Veterinary Congress of Paris in favour of "total seizure," issued a decree authorising the use of such meat. It was equally allowed in Germany, where the inspection of meat was better carried out than anywhere else, in Belgium, Holland, Austria, Italy, etc., but in England, where meat inspection is most imperfectly conducted, certain injudicious agitators wished to adopt total destruction, without giving any grounds for such a far-reaching and serious measure.

Tuberculosis was essentially a localised disease, and one which did not find a very favourable nidus in the human body; and the members should bear this in mind when asked to adopt every conclusion found good as to guinea-pigs as applicable to man. The guinea-pig was specially susceptible; it never recovered spontaneously, the disease spread very rapidly throughout its body and death was inevitable. This was not true of man. Spontaneous recovery was not a rare occurrence in man, and cases which had remained strictly local (on the head, in glands of neck, &c.) for over a dozen years were known. Was it conceivable that the whole body of such a person could be regarded as tuberculous? No! We know that when tuberculosis becomes general, death is certain and never long delayed. To find a tubercle bacillus in the blood was a thing unknown except in very rare cases and in cases of generalised tuberculosis. The vitality of the bacillus was enormously diminished by even a moderate increase of temperature, and it had been found by Bang that it could not resist the moderate temperature of 80–85° F. But in cooking meat this temperature, as a rule, was much surpassed, and hence the danger reduced and practically removed. Of course it has always to be borne in mind that the question was not one of eating tubercular material, but of eating cooked meat presenting every appearance of health derived from animals which had merely a localised tuberculosis. It was noteworthy that not one first class authority recommended total seizure; Koch, Baumgarten, Pettenkofer, Flügge, Dujardin-Beaumetz, and others considered the apprehension of danger from consumption of such meat to be ill-founded. The debate in the Académie de Médecine at Paris resulted in a refusal to adopt the heroic measure which in this country is being contemplated by a few extreme persons on the dictum of the Veterinary Congress of Paris.

The decline of deaths in this country synchronously with an enormous increase in the consumption of meat, which veterinary authorities told us was largely derived from tuberculous animals, did not bear out the notion that such meat was a fruitful source of human tuberculosis. The

Registrar-General reports that the mortality from phthisis in England per million inhabitants has been as follows:—

3 Years.	4 Years.					
1858-60.	1861-65.	1866-70.	1871-75.	1876-80.	1881-85.	1886-89.
2565·0	2526·6	2447·8	2218·0	2039·8	1820·4	1598·0

Thus the diminution, at the period of largest consumption of meat, amounted to no less than 37 per cent.

Such a result could not be due to sanitary measures. These alone could not be assumed to influence the fate of tubercular virus taken into the body and traversing the digestive tract.

In his opinion, we stood badly in need of the adoption of increased sanitary precautions in the inspection not only of dead meat, but of living cattle. We needed the general recognition that tuberculosis was infectious, and that the sputum of tuberculous patients was the chief source of danger; we needed thorough disinfection of everything infected with tubercle, *e.g.*, furniture, rooms, etc.; but we should not be misled by alarmist reports to adopt measures unwarranted by scientific facts, while shutting our eyes to the true source of danger.

Dr. Barlow said:—'This section, and English medicine generally, is exceedingly indebted to Professor Sanderson for the very guarded and moderate way in which he has stated the results of this inquiry.

The experimental results appear to me most valuable, but, to be perfectly truthful, clinical observation has not yet afforded conclusive support to them, and the desideratum is for further investigation and inspection. The wide-spread prevalence of tubercle in the children of the poor in large cities, cannot be too much accentuated. And amongst the known factors it appears to me that the acute specific diseases, whooping cough and measles, and defective ventilation, are much more obvious and powerful than the influence of milk and meat derived from tuberculous animals. But although clinical observation does not yet give the support which we believe will ultimately be gained for these experimental results, yet it may gratefully accept the suggestions for treatment which these results afford. The two practical hints which appear to me to stand out indubitably are that we ought more strongly to emphasise the need of boiling milk, and that we should be more guarded than has hitherto been the case in the prescription of raw meat, and of meat juice in cases of infantile atrophy and dyspepsia.

Professor Perroncito (Turin) dit:—La viande venait de l'abattoir de la ville de Turin et appartenait à des animaux tuberculeux à différents degrés qui étaient sequestrés.

J'ai fait trois séries d'expériences. Dans la 1^{ère}, la viande était donnée à des jeunes porcs et plus de 14 cochons ont mangé de la viande de bovidés tuberculeux pendant deux, trois, quatre mois sans qu'ils eussent présenté ensuite les symptômes, ou à leur autopsie les lésions de la maladie.

Du suc de viande a été inoculé sous la peau et dans la cavité abdominale de plus du 200 lapins et cobayes sans qu'aucun eut présenté les symptômes et à l'autopsie les lésions de la tuberculose.

Le même suc a été inoculé sous la peau de deux vaches bien portantes et saines et préalablement vaccinées contre le charbon. Les mêmes vaches ont été tenues vivantes plus de cinq mois sans qu'elles eussent présenté les symptômes et les lésions de la tuberculose.

Professor Arloing (Lyons) étant convaincu que les demi-mesures ne donnent pas la sécurité désirable à l'homme qui consomme les viandes tuberculeuses, propose, dans l'intérêt de la santé publique, d'admettre les vœux suivants :—

1° Le service d'inspection des viandes sera établi sur toute l'étendue du territoire dans le plus bref délai possible.

2° La viande des animaux tuberculeux, dans tous les cas indistinctement, ne sera jamais livrée à la consommation à l'état frais.

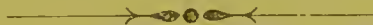
3° Elle sera stérilisée ou transformée par une application suffisante de la chaleur ou salée, suivant les lieux et les circonstances, avant d'être livrée à la consommation.

4° La moins value résultant de ces transformations ou modifications sera compensée par une indemnité.

M. Arloing ajoute que cette indemnité pourrait être couverte par une légère taxe prélevée sur toutes les têtes de bétail soumises à l'inspection.

Il pense que 1f. par tête de gros bétail, 0f. 20cs. par veau et 0f. 20cs. par porc fourniraient les fonds suffisants pour couvrir cette indemnité et payer au besoin le service d'inspection dans les petites localités.

M. Arloing appuie les propositions des orateurs qui l'ont précédé concernant l'inscription immédiate de la tuberculose parmi les maladies contagieuses dans tous les pays et d'appliquer aux malades des mesures sanitaires rigoureuses.



L'emploi de la Tuberculine comme Moyen préventif et comme Traitement de la Tuberculose.

PAR

le Dr. J. BARDACH, Odessa.



Je me permets d'exposer ici quelques résultats d'une série d'expériences faites dans le but d'étudier la tuberculine comme moyen préventif et comme traitement des animaux tuberculeux. Nous commençons par les expériences sur les cobayes.

On inocula à 4 cobayes en 11 fois durant 20 jours 5 c.c. de tuberculine ; 4 jours après la dernière inoculation on injecta de la tuberculose dans la cavité abdominale de deux de ces cobayes et 7 jours après dans celle de deux autres $\frac{1}{2}$ c.c. d'émulsion de la rate d'un cobaye mort à la suite d'inoculation des crachats tuberculeux humaines.

Les 4 cobayes succombèrent 29-45 jours après l'inoculation de la tuberculose. Deux cobayes témoins succombèrent après 36-40 jours.

Ainsi 5 c.c. de tuberculine ne sont pas en état de rendre le cobaye réfractaire à la maladie. (La tuberculine provenait de M. Libbertz et était récente pas plus de 1-2 mois.)

L'autre expérience démontre que le traitement par la tuberculine, commencé en même temps que l'inoculation de la tuberculose est impuissant à combattre la maladie. J'ai inoculé à 4 cobayes de la tuberculine. Chacun d'eux a reçu 3 c.c. (injectés en neuf fois durant 15 jours.) La première injection était accompagnée d'une inoculation de la tuberculose. Les 4 cobayes succombèrent tous à la tuberculose entre le 16 et 36 jour. Deux cobayes témoins succombèrent après 30-31 jours.

La 3^{me} expérience consistait dans l'introduction sous la peau de 6 cobayes de l'émulsion de la rate d'un cobaye tuberculeux. Deux cobayes inoculés furent traités par la tuberculine 1 semaine, deux autres 2 semaines et les deux derniers 3 semaines après l'inoculation de la tuberculose. Chacun d'eux a reçu 3 c.c. de tuberculine en 9 fois durant 15 jours.

Les six cobayes succombèrent néanmoins tous à la tuberculose, aussi que les deux témoins après 30-52 jours.

Ainsi mes expériences sur le traitement préventif par la tuberculine des cobayes sains; sur le traitement simultané avec l'inoculation de la tuberculose, et sur le traitement entrepris une, deux et trois semaines après l'inoculation de cette dernière ont toutes donné des résultats négatifs; toujours les cobayes finissaient par succomber à la tuberculose.

Je passe aux expériences sur les singes. J'inoculai à deux singes sains 5.08 c.c. de tuberculine en 14 fois durant 23 jours; 5 jours après je leur inoculai sous la peau une émulsion de rate de cobaye tuberculeux.) Les deux singes succombèrent néanmoins après 27-33 jours à une tuberculose généralisée. (Le singe témoin mourut après 30 jours.) À deux autres singes j'inoculai 10 grm. de tuberculine en 19 fois durant 28 jours. Une semaine après la dernière inoculation on leur a introduit sous la peau de la tuberculose $\frac{1}{2}$ c.c. d'émulsion de la rate d'un cobaye mort de la tuberculose. L'un d'eux succomba 35 jours après l'inoculation à une tuberculose généralisée de même que le singe témoin, le dernier est mort après 32 jours. L'autre singe est encore vivant aujourd'hui quoique 115 jours soient déjà passés après l'inoculation de la tuberculose. Il est recouvert d'abcès sous-cutanés sécrétant du pus liquide qui contient des bacilles tuberculeux. La virulence de ceux-ci est prouvée par des inoculations aux cobayes et spermophyles: tous sont morts de la tuberculose.

Vu les observations, citées dans la littérature sur la plus grande efficacité des petites doses de tuberculine injectée à la longue, j'avais fait l'expérience suivante:—

On inocula à 2 singes, durant 42 jours, 1,141 c.c. tuberculine.

„	à 1	„	„	48	„	2,241	„
„	à 1	„	„	56	„	4,241	„

Quatre jours après ils furent inoculés sous la peau avec une émulsion de rate de cobaye tuberculeux ($\frac{1}{2}$ c.c.) et succombèrent tous les 4 après 30-40 jours ainsi que le témoin à une tuberculose généralisée. Ainsi toutes les expériences d'inoculation préventive par la tuberculine se

montrèrent inefficaces sauf un cas où la maladie fut éloignée pour un certain temps, si encore ce retard est vraiment dû à la tuberculine. Vu ces résultats inefficaces je voulus essayer une combinaison d'inoculation préventive de la tuberculine avec une inoculation de la tuberculose et traitement simultané de la tuberculine.

A la suite j'inoculai deux singes par 5 cc. tuberculine (en 14 fois durant 23 jours); 4 jours après on leur inocula la tuberculose ($\frac{1}{2}$ cc. d'émulsion de la rate d'un cobaye tuberculeux, sous la peau). Simultanément on commença le traitement par l'injection de 5 cc. de tuberculine (en 11 fois durant 23 jours). Néanmoins les 2 singes succombèrent à la tuberculose en 42-47 jours, quoique chacun d'eux ait reçu 10 c.ct.

Il est intéressant que le singe, animal si sensible à la tuberculose peut très souvent supporter des grandes doses de tuberculine (1 c.c.) sans aucune réaction évidente.

Ainsi je crois que les expériences ci-devant citées permettent de conclure que la tuberculine ne peut jouer un rôle important ni dans l'acquisition de l'immunité contre la tuberculose ni dans le traitement des animaux tuberculeux.



Ueber neuere Erfahrungen in der Behandlung der Tuberkulose nach Koch, insbesondere der Lungenschwindsucht.

VON

Professor Dr. P. EHRLICH, Berlin.



Die Therapie, der wichtigste Zweig der Medizin, hat sich von Anfang an auf dem Boden der Empirie entwickelt, indem mehr zufällige oder gelegentliche Beobachtungen über Heileffecte, sei es an Mensch oder Thier, den Ausgang der praktischen Verwendung bildeten. So ist der grösste Theil der Arzneikörper, das Chinin, das Opium, das Quecksilber, der Therapie gewonnen worden. Erst die neuere Zeit, insbesondere die Fortschritte der reinen Chemie, haben hier einen Wandel geschaffen. Man bemüht sich zur Zeit, einen Einblick in das *Wesen* der Arzneikörper zu gewinnen und an erster Stelle die Frage zu entscheiden, welche Beziehung zwischen der Constitution dieser Körper und ihrer *arzneilichen* Wirkung bestehe. Massgebend für diese Richtung war insbesondere die genauere Erforschung der Alkaloide, welche zeigte, dass der grossen Zahl dieser verschiedenartig wirkenden Körper ein gemeinschaftlicher Kern, der des Pyridins eigen ist, an welchen sich verschiedene Seitengruppen als Träger der physiologischen Wirkung anschliessen. Diese Kenntniss musste notwendigerweise zu der zielbewussten Synthese neuer Arzneimittel führen. Ein Blick auf die Geschichte der neuen Antipyretica, auf die Folge von Chinolin, Kairin, Thallin bis zum Antipyrin und Phenacetin zeigt, dass es in der That möglich wird, durch geeignete

Combination schädliche Nebenwirkungen auszuschalten, ohne die Heilpotenz zu beeinträchtigen.

Im grossen und ganzen wird jedoch durch diese Richtung vorwiegend der symptomatischen Behandlung Genüge geleistet. So wichtig es unter Umständen sein kann, bei den einzelnen Krankheitsformen den Symptomen, soweit sie gefahrdrohend sind, entgegenzutreten, so muss es doch das Endziel jeder Therapie sein, die Krankheit direkt anzugreifen und ihre Ursache zu vernichten. Wenn auch die Möglichkeit einer solchen spezifischen Therapie durch die Erfahrungen beim Wechselfieber und der Syphilis sicher erwiesen ist, so fehlen uns dagegen bei der Mehrzahl der Infektionskrankheiten die Mittel, welche eine spezifische und active Beeinflussung der Krankheit ermöglichen.

Aber nicht der Pharmakologie war es beschieden, diesen Weg zu bahnen, sondern es war die Erkenntnis von den belebten Krankheitsursachen, es waren die grossartigen Entdeckungen von Pasteur und Koch, die hier eine neue Epoche herbeiführen sollten. Ich muss mir versagen, auf die Geschichte dieser Periode einzugehen; es ist hier meine Aufgabe, nur auf die Wirksamkeit, auf die Bedeutung des Tuberkulins des näheren einzugehen.

Nachdem Koch den Erreger der Tuberkulose erkannt hatte, hat er in der Bekämpfung dieser Krankheit seine Lebensaufgabe gefunden. Die grosse Zahl der organischen und anorganischen Körper gaben hierfür keinerlei Handhabe. Erst das biologische Studium der Bacillen und die Analyse des natürlichen Heilungsvorgangs liessen Koch in den eigenen Stoffwechselprodukten der Bacillen das Mittel finden, welches nur allein die Tuberkulose zu bekämpfen im Stande ist. So ist zum ersten Male auf dem Wege strenger systematischer Forschung das Ideal einer rationellen Therapie, einer wirklich spezifischen Bekämpfung der Krankheit, erreicht, und damit ein Beispiel gegeben, das vorbildlich wirken muss für die weiter Entwickelung der gesamten Medizin.

Der Enthusiasmus, welchen die Entdeckung des Tuberkulins in den weitesten Kreisen hervorrief, und der Rückschlag, der eintrat, als die viel zu hoch gespannten Erwartungen sich nicht sogleich erfüllten, in Aller Gedächtnis. Im besonderen wurde die rückläufige Richtung durch die pathologisch-anatomischen Beobachtungen hervorgerufen, welche eine grosse Gefährlichkeit des Mittels zu beweisen schienen; und dennoch musste es von Anfang an klar sein, dass die Demonstrationen Virchows, die im überwiegenden Teil auf sehr vorgeschrittene Fälle bezugnahmen, sich nicht *gegen das Prinzip der Behandlung, sondern höchstens gegen die Technik und die Heranziehung zu schwerer Fälle richten konnten*. Unbeirrt von diesen Fluctuationen, welche in ähnlicher Weise bei jedem grossen Fortschritt der Wissenschaft zu Tage getreten sind, hat eine grosse Reihe von Aerzten weiter gearbeitet und nach Wegen gesucht, um die Heilkräfte des Kochschen Mittels frei von schädlichen Nebenwirkungen ganz und voll zur Geltung zu bringen. Zweck meiner Mitteilung ist es, die Prinzipien, zu denen

diese positive Richtung geführt hat, hier in kurzen Zügen zu präzisieren.

Von Koch ist festgestellt worden, dass das wesentliche der Tuberkulinwirkung auf der localen Beeinflussung aller tuberkulös erkrankten Gewebe beruht. Von den Hypothesen, die diese wunderbare Erscheinung erklären sollen, ist zur Zeit noch immer die ansprechendste die von Koch aufgestellte Vermutung, dass an den Stellen, wo Tuberkelbacillen vegetieren, das Toxin präformiert ist, und die erhöhte Wirkung somit auf einer einfachen Summation beruhe. Ich kann daher der neuen Theorie von Köhler und Westphal, nach welcher das im Tuberkulin vorhandene wirksame Prinzip nicht mit dem in den Gewebsflüssigkeiten des Körpers vorhandenen Stoffwechselprodukt identisch sei, nicht zustimmen, um so weniger, als ihre Hülfshypothese, dass diese beiden Körper bei ihrem Zusammentreffen eine neue entzündungserregende Substanz bildeten, durchaus ohne Analogon dasteht.

Im Vordergrunde aller Erklärungsversuche muss die Thatsache stehen, dass das Tuberkulin nicht den Tuberkel selbst, sondern das in seiner nächsten Umgebung gelegene Gewebe angreift. In dieser Beziehung ist, meines Wissens zuerst von Biedert, betont worden, dass der prinzipielle Unterschied zwischen dem von aussen eingeführten und von Bacillen erzeugten Tuberkulin darin zu suchen sei, dass jenes die Herde von der Peripherie angreift, dieses vom Centrum aus. Man könnte noch einen Schritt weitergehen und annehmen, dass die in die Zusammensetzung des eigentlichen Tuberkelknötchens eintretenden Zellen als unter dem steten Einfluss der Stoffwechselprodukte stehend selbst eine gewisse erhöhte Immunität erworben haben, während eine schalenförmig den Tuberkel umgebende Zone des Diffusionsgebietes das entgegengesetzte Verhalten zeigen muss. An diesen Stellen, denen wir, wie dem Hautsystem tuberkulöser Meerschweinchen, eine erhöhte Empfänglichkeit vindicieren müssen, ist der Angriffspunkt des Tuberkulins. Hier treten die entzündlichen Erscheinungen, die Transsudation des Blutserums u. s. w. zunächst ein, die an erster Stelle dem Tuberkelknoten und seinen peripherischen Schichten zu gute kommen müssen. Unter diesen Umständen wird in vielen Fällen durch den regeren Stoffaustausch ein Theil der in dem Tuberkel sozusagen festgelegten Stoffwechselprodukte nach aussen geführt, und so eine von innen heraus erfolgende Verstärkung der Tuberkulinwirkung erzielt werden. Mit Hülfe dieser Anschauung lassen sich die meisten, oft so paradoxen Erscheinungen, welche bei der Reaction auftreten, erklären, insbesondere die Thatsache, dass oft ganz minimale Dosen von Tuberkulin eine sehr starke Reaction hervorrufen, die mit der verwandten Dose gar nicht in Beziehung zu bringen ist. Es ist wohl klar, dass in solchen Fällen eine Constellation gewisser Momente, wie geeignete anatomische Vorbedingungen, die Möglichkeit eines ausgiebigen Diffusionsverkehrs mit der Umgebung, eine stärkere Ansammlung von Stoffwechselprodukten u. s. w. vorhanden ist, die bedingen, dass eine kleine Menge Tuberkulin unverhältnissmässig grosse, neue Portionen frei macht. In gleicher Weise lässt sich die früher so häufig bei der Endbehandlung

mit grossen Dosen beobachtete Erscheinung erklären, dass die erste nach der Pause erfolgende Dezigrammdose starke Reaction hervorrief, während die zweite am nächsten oder übernächsten Tage nachgeschickte Injection ohne jeden Effect blieb, indem in diesem Fall schon die erste Reaction die in den der Durchflutung zugänglichen Partien vorhandenen Tuberkulinmengen ausgeschwemmt hat.

Soviel über die Theorie der Tuberkulin-Wirkung.

Eine der grössten Errungenschaften, die wir dem Tuberkulin verdanken, ist die unermessliche Bereicherung, welche in ihm die *Diagnostik* der Tuberkulose erfahren hat. Vor allem ist dieselbe der frühzeitigen Erkenntnis der Lungenphthisis zu gute gekommen, die gerade jetzt von solcher Bedeutung für die Praxis geworden ist. Fast unzählige Erfahrungen liegen vor, dass Individuen, bei denen mit den bisherigen diagnostischen Hilfsmitteln höchstens der *Verdacht* einer Lungenphthisis ausgesprochen werden konnte, schon durch die erste Injection als mit der Tuberkulose sicher behaftet erkannt wurden; sei es durch das Auftreten einer charakteristischen Reaction, sei es—und dies war häufig der Fall—durch den erst jetzt ermöglichten Nachweis der Bacillen im Auswurf.

Auch insofern ist das Tuberkulin von grosser Bedeutung für die Klinik der Tuberkulose geworden, als man sich bei anscheinend streng localisirter Krankheit sehr häufig von dem Vorhandensein zahlreicher, latenter Herde überzeugen konnte. Ich erinnere hier nur daran, wie oft eine Erkrankung der Lungenspitzen von secundären Processen der oberflächlichen Lymphdrüsen, des Axillar- und Supraclaviar-Gebietes begleitet sind. Ich erinnere an die Complicationem von Seiten der Synovialis, der Knochen und anderer Systeme, die erst durch das Tuberkulin aufgedeckt worden sind.

Um auf die einzelnen Factoren, die für die diagnostische Bedeutung des Tuberkulin massgebend sind, einzugehen, so ist unbestritten, dass die *locale* Reaction beweisend für die tuberkulöse Natur der Erkrankung sei. Unter den so zahlreichen Krankheitsformen, die auf Tuberkulin-Reaction geprüft worden sind, haben überhaupt nur 2 in einzelnen Fällen eine locale—und auch eine therapeutisch günstige—Beeinflussung durch das Mittel erfahren; Actinomycose und Lepra, von denen die letztere durch die morphologischen und tinctoriellen Eigenschaften des Krankheitserregers eine nahe Verwandtschaft zur Tuberkulose schon früher zu haben schien. Durch diese Ausnahme wird jedoch die praktische Bedeutung der localen Reaction auf Tuberkulin in keiner Weise herabgesetzt, da es sich hier um zwei leicht erkennbare Krankheitsformen handelt.

Strittiger ist die Frage über die Bedeutung der fieberhaften Reaction. Besonders ist der Umstand, dass bei vielen anscheinend gesunden Individuen schon Milligrammdosen starke Fieberbewegung hervorriefen, gegen den diagnostischen Wert der Fieberreaction ins Feld geführt worden.* Nach meiner Ansicht muss der Streit vor der

* Fünfzehn Versuche, die im Moabiter Krankenhaus an gesunden Personen des Wartepersonals mit Dosen von 0.01 ausgeführt wurden, haben nur in einem einzigen Falle geringe Temperatursteigerung (gegen 38°) ergeben.

Hand, bis weiteres thatsächliches Material vorliegt, unentschieden bleiben. Ich muss aber doch hier meiner Ueberzeugung Ausdruck geben, dass die Reaction auf kleinere Dosen (etwa unter 5 Milligramm) sicher auf Tuberkulose hinweist, selbst wenn weder Anamnese noch die Untersuchung hierfür sonstige Anhaltspunkte ergeben.

Wer gesehen hat, wie ein kleiner Leichentuberkel von kaum Erbsengrösse heftige Allgemeinreaction vermitteln kann, wird unwillkürlich zu der Vermuthung geführt, dass es sich in den fraglichen Fällen von Reaction anscheinend Gesunder, um kleine oder versteckte Herde gehandelt habe, die sich durch ihren Sitz (Bronchialdrüsen etc.) der Diagnostik entziehen. Ausserdem sollte man nicht ausser Acht lassen, dass man bei ein Drittel, nach anderen bei der Hälfte des Seetionsmaterials Residuen tuberkulöser Processe begegnet. Bei dieser Sachlage ist es um so erwünschter, dass die prinzipielle Seite dieser Frage in der Thierheilkunde, die in dieser Beziehung weit günstiger situiert ist, schon jetzt der definitiven Lösung entgegen geführt wird. Es kann jetzt schon als sichere Thatsache gelten, dass bei anscheinend gesunden Rindern, welche auf kleine Dosen Tuberkulin (0.1–0.3) reagieren, *bei der Schlachtung ohne Ausnahme tuberkulöse Herde nachweisbar sind*. Es wäre überflüssig die fundamentale Bedeutung, welche diese Thatsache auch in hygienischer Beziehung besitzt, hier des näheren zu erörtern.

Was nun die heilende Einwirkung des Tuberkulins anbetrifft, so ist allgemeinen anerkannt, dass diese ausschliesslich auf der localen, spezifischen Beeinflussung der tuberkulösen Gewebe beruht. Weiter ist man im Lauf der Zeit zu der Ueberzeugung gelangt, dass zur Erreichung des erwünschten Effectes stürmische Localreactionen weder erforderlich noch wünschenswerth sind, sondern dass hierfür kleinere, dafür aber öfter wiederholte Reizungen vorzuziehen sind. Der Kernpunkt dieser Behandlung, welcher die Abkapselung des tuberkulösen Gewebes auf dem Wege der Narbenbildung erstrebt, besteht darin, durch möglichst lange Zeit die spezifische Reizbarkeit des erkrankten Gewebes zu erhalten und diese nicht, wie es in der ersten Zeit geschah, durch grosse und schnell gesteigerte Dosen vorzeitig zu vernichten.

Die Geschichte der Lupustherapie bietet den Beleg, dass die anfänglich staunenswerten Erfolge, welche die ersten grossen Reactionen erzielten, zu theuer erkauft waren durch die rasch einsetzende Vernichtung der Reactionsfähigkeit, welche die günstige Fortsetzung der Behandlung, die Verhinderung der Recidive, nicht mehr möglich erscheinen liess. Es ist kein Zufall, dass alle neueren Vorschläge, wie sie von zahlreichen Autoren, von Biedert, Lichtheim, Langenbuch, Moritz Schmidt, Merkel und Rosenfeld, Walb, Guttmann und dem Vortragenden und noch vielen anderen, ausgegangen sind im Wesentlichen den eben skizzierten Anforderungen gerecht werden.

Gemeinschaftlich allen diesen Verfahrensweisen, soweit sie auch im Detail auseinandergehen, ist die Vermeidung starker Allgemeinreaction, die Verwendung kleiner Dosen und langsamer Steigerung. Für die prinzipielle Verwendung kleiner Dosen spricht zunächst, dass

diese nur eine geringe Irritation vermitteln. Dadurch werden alle Nachteile, die sich an den durch grosse Gaben erzeugten Reactionssturm knüpfen können, vollkommen vermieden. Wir haben nicht mehr zu fürchten, dass das im Sinne Biederts als Schutzwall dienende Gewebe, auf dessen Erhaltung und bindegewebiger Umbildung eben der Heilungsvorgang der Tuberkulose beruht, rapide vorzeitig vernichtet wird. Desgleichen gehen wir unerwünschten Zufällen aus dem Wege, wie sie ausnahmsweise in der Curve durch länger andauerndes Fieber, klinisch durch eine Ausdehnung der pneumonischen Herde zu Tage traten. Auch der Umstand, dass unter diesen Verhältnissen jede starke Fiebererregung, die immerhin im Sinne einer häufig durch Gewichtsabnahme gekennzeichneten Schwächung des Organismus wirkt, vollkommen vermieden wird, ist von nicht zu unterschätzender Bedeutung für den Verlauf der Heilung.

Der Hauptvorzug der Therapie der kleineren Dosen ist aber darin zu finden, dass eine Gewöhnung an das Tuberkulin so bald nicht eintreten kann. Während man bei der früheren Dosierung gelegentlich schon im Verlauf des ersten Monats die Grenze erreichte, wo auf die höchsten Dosen von 1 Dezigramm eine allgemeine Reaction nicht mehr eintrat, sieht man bei dem jetzigen Vorgehen auch noch nach Monaten fieberhafte Reaction eintreten, wenn gelegentlich eine Steigerung zu rasch erfolgt.

Ein fernerer Mittel, um die Reizbarkeit der Gewebe möglichst lange zu erhalten, besteht darin, dass man die Injectionen nicht täglich, sondern in grösseren Abständen vornimmt. Dieses Vorgehen hat noch den weiteren Vorzug, dass hierdurch zweifellos das vollkommene Abklingen der jedesmaligen Irritation sichergestellt ist, und dass so der schädigende Einfluss einer Superposition, der sog. Cumulation, vollkommen vermieden werden kann.

Auf Grund dieser Erwägungen empfiehlt sich folgendes Vorgehen, das von Herrn Geh. Rat Koch als das zweckentsprechendste angesehen wird. Die Dosis soll so gross sein, dass sie sicher eine Reaction der erkrankten Parteen hervorruft. Da man bei der Lungenphthise meist nicht im Stande ist, sich von dem Bestehen einer localen Reaction zu überzeugen, wählt man als Criterium der wirklich ausreichenden Dosis geringe Steigerungen der Körperwärme, die jedoch leicht febrile Werte—von 38° und darüber—nicht überschreiten sollen. Die erste Gabe wird in der Mehrzahl der Fälle unter einem Milligramm bleiben. Bei noch kräftigen Individuen und nicht sehr fortgeschrittenen Processen wird man versuchsweise mit $\frac{1}{2}$ Milligramm beginnen, während man bei schwächeren Constitutionen, fortgeschrittenen oder mehr floriden Processen, kurz unter allen Umständen, die auf eine Ueberempfindlichkeit hindeuten, besser mit den von Guttmann und mir empfohlenen kleinsten Dosen die Behandlung einleiten wird. Die Injection wiederholt man je nach der Individualität des Falles in Pausen von 2–3, gelegentlich auch noch mehr Tagen und steigert die Dose erst dann, wenn die erheischte schwache Reactionswelle in der Curve nicht mehr sichtbar wird. In dieser Weise wird die Behandlung consequent und vorsichtig weiter tastend fortgesetzt. Von diesem Behandlungs-Schema nehmen

wir nur bei hektischen Personen Abstand, da hier das schon vorhandene Fieber die Erkennung der erwünschten Minimal-Reaction verhindert. Bei derartigen Patienten hat es sich als vorteilhaft erwiesen, täglich kleinere Mengen, 3–5 Decimilligramm zu injicieren und mit eventuellen Steigerungen nur äusserst vorsichtig vorzugehen. Unter diesen Umständen sind in Moabit und anderorts in relativ kurzen Fristen, häufig schon in den ersten 8–14 Tagen ausgesprochene Besserungen, insbesondere vollkommenes Schwinden der Hektik beobachtet worden.

Hervorheben möchte ich noch, dass die modernsten Bestrebungen dahin gerichtet sind, durch Combination mit geeigneten Arzneimitteln die Heilpotenzen des Tuberkulin zu erhöhen. Das eigentliche Tuberkelknötchen stellt ja ein fest geschlossenes, gefässloses Gewebe dar, welches die Tuberkelbacillen sozusagen vor dem Einfluss der im Blut etwa vorhandenen pharmakologischen Agentien schützt. Es war nun naheliegend, die Durchspülung des Erkrankten, wie sie durch die Reaction vermittelt wird, dahin zu verwerten, den Tuberkelbacillus der Einwirkung geeigneter Kampfmittel auszusetzen. Von diesem Gesichtspunkte aus sind wohl schon allerorten Versuche angestellt worden; von den diesbezüglich zum Teil noch im Gang befindlichen Versuchen in Moabit möchte ich nur berichten, dass bei Lupus sich hervorragend vorteilhaft eine Combination der Localbehandlung durch Emplastr. mercuriale mit Tuberkulin-Injectionen bewährt hat. Natürlich wird es die Aufgabe der klinischen Therapie sein müssen, am Krankenbette noch einmal die grosse Reihe aller Stoffe, welche den Bacillus selbst in ungünstiger Weise zu beeinflussen vermögen, mit Hülfe des Tuberkulin zur Wirkung zu bringen zu suchen. Dass auf diesem Wege das grosse Problem gelöst werden wird, dafür sprechen die Mittheilungen über die in der Phthiseotherapie erzielten Resultate, die schon jetzt von Magliano und Langenbuch erzielt worden sind. Ich selbst habe Gelegenheit gehabt, mich von den glänzenden, in der Geschichte der Phthiseotherapie einzig dastehenden Resultaten zu überzeugen, die Langenbuch durch die rationelle Durchführung der Tuberkulinkur im Verein mit der Verwendung geeigneter Combinationen, insbesondere der so zweckmässigen mit Pikrinsäure und Sublimat erzielt hat. Wenn wir sehen, dass bei einem durchaus nicht ausgewählten, sondern eher ungünstigen Durchschnittsmaterial unter 99 Phthisikern, die der Behandlungen unterworfen wurden, 40 % Besserungen und 33 % Heilungen erzielt worden sind, so sind das Thatsachen, die das Staunen und die Bewunderung eines jeden erregen müssen.

Bei der Behandlung einer so hartnäckigen Krankheit müssen alle Vorteile gelten: man wird daher nicht vergessen, die Prinzipien, wie sie von Brehmer und Dettweiler aufgestellt, in möglichster Ausdehnung zur Anwendung zu bringen. Dass bei chirurgischen Tuberkulosen nur ein geeignetes Zusammenwirken der Tuberkulinbehandlung und der entsprechenden nothwendigen chirurgischen Eingriffe zum ersuchten Ziele führen kann, ist ja von Koch schon von Anfang an betont worden.

Eine Aufgabe von besonderer Wichtigkeit wird es natürlich sein, zu entscheiden, ob im einzelnen Fall die Tuberkulinbehandlung noch

vorthellhaft angewendet werden kann. *Wir* beschränken, wie schon erwähnt, die Indication der Tuberkulinbehandlung nicht auf ganz initiale Fälle, sondern haben auch bei fortgeschritteneren, selbst hektischen Fällen gute Erfolge gesehen, wenn die Behandlung in den hier erheischten Fristen consequent durchzuführen war. Leider zwingen äussere Umstände die Patienten, die die öffentlichen Krankenhäuser aufsuchen, vielfach die Kur zu Zeiten abzubrechen, in denen die Wendung zum Besseren kaum angebahnt ist. Dass dann unter den kläglichen äusseren Verhältnissen die kaum errungenen Vorteile rasch wieder verloren gehen, dürfte Niemand Wunder nehmen. Daher empfiehlt es sich, schon im Interesse der Methode selbst, fortgeschrittene Fälle nur dann der Tuberkulinbehandlung zu unterziehen, wenn man die Gewissheit hat, dieselbe consequent und monatelang durchführen zu können.

Hoffen wir, dass die Errichtung öffentlicher Spezialkrankenhäuser und Reconvalescentenhäuser die für so viele Leidende notwendigen äusseren Vorbedingungen schafft.

Was nun die bisherige Erfahrung über die Heilwirkung des Tuberkulin anbetrifft, so stehen sich noch immer Freunde und Gegner in heftigem Kampfe gegenüber. Den Werth statistischer Betrachtungen, zumal derjenigen aus den ersten Zeiten, die sich nur auf den Zeitraum weniger Wochen beziehen, darf man aus vielerlei Gründen nicht zu hoch anschlagen. Man bedenke die Aenderung des Krankenmaterials, welches dem Bekanntwerden der Entdeckung unmittelbar folgte. Patienten mit weit vorgeschrittenen Processen, denen das neue Mittel als ein unerwarteter Hoffnungsstrahl erschien, drängten unabweisbar auf die Behandlung und rissen auch besonnene Aerzte zu Versuchen mit dem Tuberkulin hin. Dazu kam noch, dass man sich noch in der Periode der ersten Versuche befand und erst lernen musste, das Tuberkulin, das in der Medizin ohne jedes Analogon dastand, entsprechend seiner Eigenart zu handhaben. Es galt das Terrain der Behandlung abzugrenzen, Indicationen und Contraindicationen und was die Hauptsache—die beste Behandlungsform aufzufinden.

Die tiefe Depression aber, welche in vielen Kreisen jetzt Platz gegriffen hat, ist im Wesentlichen auf das Eingreifen der pathologischen Anatomie zurückzuführen. Ohne in Abrede stellen zu wollen, dass die von Koch mit guten Gründen zuerst aufgestellte Behandlungsmethode bei der Heranziehung ungeeigneter Fälle Gefahren in sich bergen kann, so ist es doch auf das Lebhafteste zu bedauern, dass unter dem Einfluss einer irrigen Auffassung der pathologisch-anatomischen Befunde die Beurteilung des Tuberkulins in eine ganz falsche Richtung gedrängt worden ist. Vielfach hat man sich gewöhnt, in wenig objectiver Weise jeden ungünstigen Zwischenfall, jede Verschlechterung, die als solche dem normalen Fortschreiten des phthisischen Processes anzurechnen sind, der Tuberkulinwirkung zur Last zu legen. Dem gegenüber müssen wir betonen, dass wir im Verlauf der Tuberkulinbehandlung bei dem grossen Material der inneren Abteilung des Moabiter Krankenhauses nie einen Fall von Miliartuberkulose beobachteten und Complicationen wie Pneumothorax, Darmperforation und Haemoptoë sehr

selten und sicherlich eher weniger häufig als unter den früheren Behandlungen auftreten sahen.

In dieser Beziehung kann nicht genug hervorgehoben werden, dass die pathologisch-anatomischen Befunde, die gegen das Tuberkulin geltend gemacht worden sind, sich ausschliesslich auf die frühere Behandlungsweise und die Heranziehung eines kann geeigneten Krankenmaterials beziehen, und insofern ein wirklich actuelles praktisches Interesse nicht mehr besitzen. Dass man den so unerwünschten secundären pneumonischen Prozessen mit Hilfe der kleinen Methodik entgegen kann, sehe ich schon nach eigenen Erfahrungen jetzt als eine gesicherte Thatsache an. Desgleichen kann man es als sehr wahrscheinlich betrachten, dass bei diesem Verfahren, welches die Abkapselung der tuberkulösen Massen in systematischer Weise anstrebt, jeder Dissemination entgegengetreten wird.

Zum Schluss möchte ich noch in kurzen Zügen die bislang erzielten therapeutischen Resultate skizzieren. Wohl die meisten Autoren sind darüber einig, dass bei dieser Behandlungsweise auffällige Besserungen, die durch eine günstige Beeinflussung des physikalischen Befundes, insbesondere die Verminderung oder das Verschwinden der Rassengeräusche, durch das Verhalten des Sputums und den eventuellen Mangel der Bacillen, durch das Sistieren des Hustens, der Hektik und der Nachtschweisse, durch die Besserung des Allgemeinbefindens und erhebliche Gewichtszunahme gekennzeichnet sind, in einem Umfange auftreten, der früher auch nicht annähernd erreicht wurde. Wenn auch von mancher Seite der Werth dieser Besserungen nicht so hoch angeschlagen wird, so kann ich dem nach unseren ausgedehnten Erfahrungen vom praktischen Standpunkte aus nicht zustimmen, indem es schon ein ganz ausgezeichnetes Resultat ist, wenn eine relativ kurze Behandlung ein dem Krankenhaus verfallenes, sieches Individuum binnen kurzer Zeit wieder seiner Familie und der Erwerbsfähigkeit zurückgiebt.

Wie nicht anders zu erwarten, sind vollkommene Heilungen, die durch das vollkommene Schwinden aller subjectiven und objectiven Krankheitssymptome characterisirt sind, naturgemäss nicht in der gleichen Häufigkeit und zunächst vorwiegend bei mehr initialen Fällen erreicht worden. Ich erinnere nur an die Beobachtungen von Koch, Stricker, Finkler, Fürbringer, Guthrie-Leigh, Cantani, Langenbuch und auch an unsere eigenen (5 Heilungen). Ueber die Dauerhaftigkeit dieser Heilungen wird sich natürlich erst nach Jahren ein definitives Urtheil abgeben lassen. Nach aller Voraussicht und nach eigenen sich fast auf $\frac{3}{4}$ Jahr erstreckenden Beobachtungen, ist es das wahrscheinlichste, dass die Heilung eine definitive sein dürfte. In dieser Beziehung werden sich die durch Tuberkulin geheilten Fälle mindestens in der gleichen Lage befinden, wie solche, die unter dem Einfluss der hygienisch-diätetischen Methode (z. B. Görbersdorff, Falkenstein) gesunden. In dieser Richtung liefern die Statistiken der Anstalten recht bemerkenswerte Vorbilder relativ zahlreicher und definitiver Heilungen.

Ganz ausgezeichnete Erfolge sind weiterhin bei der Behandlung der Kalkkopftuberkulose erzielt worden, offenbar aus dem Grunde,

weil hier durch die anatomischen Verhältnisse die Ausstossung der erkrankten Gebiete relativ leicht von Statten gehen kann.

Wenn man auch von glänzenden Einzelfällen, wie sie von Renvers, Lenzmann, Michelson berichtet sind, gänzlich absieht, so liefert doch die Statistik eines Moritz Schmidt, der unter 39 Fällen 20 Heilungen, diejenige von Grabower, der unter 40 Fällen 8 schon seit mehreren Monaten bestehende Heilungen und 15 erhebliche Besserungen constatirte, ein höchst befriedigendes Bild.

Gerade die glänzenden Resultate, welche die Laryngologie selbst in *verzweifelte*n Fällen errungen hat, sind von so hohem Werth, indem sie unwiderleglich darthun, dass das Tuberkulin nicht nur bei den Versuchsthiere, sondern auch beim Menschen volle Heilwirkung entfaltet. Es ist jetzt die vornehmste Aufgabe der Medizin, den hier herrschenden Vorgängen nachzuforschen und die Mittel aufzufinden, die es ermöglichen, die vorderhand noch selteneren Ausnahmen zu regelmässigen Vorkommnissen zu gestalten. Bei der ausserordentlichen Complicirtheit der tuberkulösen Erkrankung ist die Frage nach den Bedingungen des Erfolges eine ausserordentlich schwierige. Wenn man jedoch bedenkt, dass noch die meisten Fragen der allgemeinen Therapie der Erledigung harren; wenn man bedenkt, dass die so wichtige und schon Jahrhunderte alte Frage nach der Zweckmässigkeit oder Unzweckmässigkeit der Antipyrese noch immer mitten in der Discussion steht und weit entfernt von sicherer Entscheidung ist, so hat man allen Grund, mit den theoretischen und praktischen Erfolgen, die die Tuberkulinbehandlung in wenigen Monaten erzielt hat, vollkommen zufrieden zu sein. Gerade die Eigenart der Koch'schen Entdeckung wird es jedoch ermöglichen, weit schneller zum erwünschten Ziele zu gelangen: da sie auf dem Boden rein experimenteller Forschung erwachsen ist, wird es möglich sein, alle Fragen, die am Krankenbett auftreten und hier so schwer zu entscheiden sind, mit Hilfe des Experimentes zur Lösung zu führen.

Und so glaube ich denn zum Schluss nochmals meiner festen Ueberzeugung Ausdruck geben zu sollen, dass schon die nächsten Zeiten die Hoffnungen, die sich an Kochs grosse Entdeckung geknüpft haben, ganz erfüllen werden.



DISCUSSION.

Professor Hueppe (Prag).—Vortragender theilt mit, dass er zu einigen Resultaten über die Aetiologie der Tuberkulose gekommen sei, die einige scharfe Differenzen der letzten Zeit anders aufzufassen gestatten. Er habe selbst bereits 1887 gezeigt, dass die Bacillen der Perlsucht der Rinder einige kleine aber constante Abweichungen von den Bacillen der menschlichen Tuberkulose zeigen. Neuerdings sei dann von Mafucci und Koch ein noch grösserer Unterschied zwischen den Bacillen der Hühnertuberkulose und der Tuberkulose der Säugethiere erkannt worden. H. ist es nun durch systematisches Cultiviren in bestimmten Medien gelungen, die Bacillen der menschlichen Tuberkulose so zu verändern,

dass sie schliesslich morphologisch und culturell nicht von den Bacillen der Hühnertuberkulose zu unterscheiden waren. Die umgekehrten Versuche sind dagegen nur zum Theil gelungen. Ebenso gelang es, entgegen den meisten neueren Angaben, zum Theil mit Hühnertuberkulose Meersehweinchchen und mit menschlicher und Säugethier-Tuberkulose Hühner zu inficiren. Ferner konnte H. zwischen dem Tuberkulin aus Culturen der Säugethier-Tuberkulose und aus Culturen der Hühnertuberkulose keine qualitativen Unterschiede erhalten. Beide Präparate waren gleich wirksam. Hueppe ist desshalb sehr entschieden der Ansicht, dass die Unterschiede zwischen den verschiedenen Formen der Tuberkulose weit geringer und mehr quantitativer als qualitativer Art sind. Die Hühnertuberkulose sei desshalb prophylactisch nicht leichter zu nehmen als die anderen Formen, da man die Bedingungen, unter denen sie auch für Säugethiere und Menschen infectios sei, dazu noch viel zu wenig kennt. Nach Hueppe sind die Tuberkelbacillen die parasitische und variable Form einer pleomorphen Species, die mit dem *Aktinomyces*-Mikroben einige Verwandtschaft zu haben scheint.

Professor Ponfick (Breslau).—In Bezug auf die diagnostische Bedeutung des Mittels möchte ich hervorheben, dass man in der Deutung des Zusammenhanges der Erscheinungen kaum vorsichtig genug sein kann. Denn wie leicht kann ein sehr kleiner Herd bei der Section unentdeckt bleiben! Ein lehrreiches Beispiel in dieser Richtung bot eine mit Tuberculin behandelte *Patientin*, welche so lebhaft reagirte, dass kein Zweifel an der Diagnose zulässig erschien. Das bei ihr vorhandene Empyem, welches zum Durchbruch drängte, wurde demnach für ein tuberculöses gehalten, obwohl der durch die Resektionswunde entleerte Eiter keine Bacillen enthielt.

Zu grösster Ueberraschung ergab nun die Section, dass der Grund für die Erscheinungen seitens der Lunge in einer schweren Actinomykose gelegen war. Es könnte also scheinen, als ob eine Täuschung im Spiele sei, dass also auch der Actinomykose—in Einklang mit der Behauptung einiger früherer Autoren—die Fähigkeit beiwohne, die charakteristische Reaction hervorzurufen.

Wie verhielt es sich aber in Wirklichkeit? In der Spitze der anderen Lunge sass ein allerdings sehr kleiner, ausgesprochen tuberculöser Herd, dem wohl ohne Zweifel der Eintritt jener Reaction zugeschrieben werden muss: ein neuer Beweis, wie sehr man sich hüten muss, einer nicht tuberculösen Affection die gleiche Reaktionskraft beizumessen, bevor die Anwesenheit kleinster tuberculöser Herde nicht auf das Bündigste ausgeschlossen ist.

Was sodann die Bedenken des Herrn Cornil anlangt, so vermag ich mich auf Grund einer ansehnlichen Zahl von Sections-Erfahrungen keineswegs so ungünstig auszusprechen.

Professor Ehrlich (Berlin) sagte:—Gegenüber Herrn Dr. Hunter muss ich bemerken, dass das reine Tuberkulin, dessen Darstellung Geh. Rath Koch gelungen, die gleichen pyrogenen Wirkungen entfaltet wie das gewöhnliche Tuberkulin. Die Annahme Hunters, dass die fiebererregende Wirkung für die Therapie ungünstig seien, halte ich für durchaus unzutreffend.

Die Kürze der mir gegebenen Zeit verhindert mich auf die Ausführungen von Herrn. Prof. Cornil einzugehen—Herrn Prof. Cornil's Deductionen beziehen sich—soweit sie auf eigenen Erfahrungen beruhen—ausschliesslich auf die ersten Zeiten, in denen ja die Heranziehung

schwerer Fälle und grösserer Dosen vielfach die Resultate trübte. Es ist im Interesse der Sache zu bedauern, dass Prof. Cornil sich nicht durch eigene Versuche von den Fortschritten, die inzwischen in der Art der Behandlung erzielt worden sind, hat überzeugen wollen. Er würde dann gesehen haben, dass die Einwände, die er sich *a priori* gegen die Wirksamkeit der modernen Behandlungsform gebildet hat, thatsächlich durchaus nicht zutreffen, ja nicht einmal den Kern der Frage treffen. Nicht die Verwendung kleinster Dosen, sondern die Vermeidung starker Reactionen und die Erhaltung der Irritabilität der Gewebe sind die Principien, die therapeutisch massgebend sind. Die Verwendung kleiner Dosen ist ja nur eine provisorische, indem sie nur die Stufen darstellen, mit deren Hülfe man ohne jeden Nachtheil zu grösseren Gaben aufsteigt.

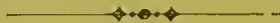
Ich bin der Ueberzeugung, dass die Befolgung dieser Principien unerwünschte Zufälle, die Herr Prof. Cornil so häufig sah, unmöglich machen und allerorts positive und günstige Resultate, wie wir sie erhalten, zeitigen wird.



Pretubercular Lesions in Phthisis Pulmonalis.*

BY

SHERIDAN DELÉPINE, M.B., B.Sc., Lecturer on Pathology, St. George's Hospital, London.



1. *Differences between the Pulmonary Lesions observed in Phthisis and in General Tuberculosis.*

Before discussing the few facts I wish to bring forward, I think it will be well to consider very briefly a question which is generally a source of misunderstanding between clinical observers, experimenters, and anatomists.

Pulmonary Phthisis or Consumption and *Tuberculosis* are so closely allied that the terms are and have been used by some of the most competent observers as practically synonymous—phthisis being simply a stage of tuberculosis. Indeed some writers, impressed by the confusion which has resulted from the use of the word phthisis, have determined to drop it entirely, and to describe as cases of pulmonary tuberculosis very nearly all the cases which used to fall under the head of phthisis.

I do not wish to enter here into minute anatomical details, but I think that it will be agreed by all, that if the term tuberculosis is to supersede entirely the word phthisis, something will have to be done to indicate the differences between the various forms of tuberculosis of the lung. I perfectly agree that the word phthisis is faulty in many respects, but by seeing in phthisis nothing but tuberculosis we may perhaps create for ourselves some other serious sources of error.

It is generally admitted that when the lungs are affected with tuberculosis as a result of accidental or experimental penetration of tuberculous

* This paper was illustrated by specimens and microscopic slides.

products into the vessels, there is a remarkable uniformity in the distribution of the grey granulations of Bayle all through the organ. This universal eruption may be accompanied with more or less congestion, or secondary inflammation. The tubercles are more or less abundant, so as to be at times perfectly discrete, whilst, in other cases, they may form large clusters. These tubercles contain a greater or less proportion of epithelioid and exudation cells or show different degrees of cheesy degeneration. All these sources of variation do not alter the main fact, viz., *that the lungs are in that disease uniformly affected by a general eruption of tubercles.* The lungs themselves may be the seat of infection, but a primary affection of almost any other organ might bring about the same results after a longer or shorter interval of time.

In a large proportion of those cases which are generally indicated by the term *tubercular phthisis* things are very different. Tubercles in various stages of evolution are generally present, but instead of the universal distribution to which we have just alluded, they may be almost entirely confined to one lung, or even to one lobe or one part of one lobe. In addition to these tubercles there are some extensive lesions of some kind or other, either cheesy nodules or some large tracts of tissue infiltrated with pneumonic products or cheesy matter, or large cavities filled with purulent and other products. As Laennec has so well shown, the tubercles found in the neighbourhood of these diffuse lesions are evidently older than those which are more distant, so that it is fair to surmise that the diffuse lesions occupy the original seat of infection. This is so marked that Reinhardt, Virchow, Niemeyer, and others have seen in it a proof that the tubercles were secondary to some degenerative changes taking place in the inflammatory products which, according to them, formed the basis of the diffuse infiltration.

The anatomical differences to which I have alluded (and of which Hamilton has been one of the latest exponents in his treatise on the Pathology of Bronchitis, 1883) are so evident that they have been recognised as well by those who follow Laennec, as by those following Reinhardt and Virchow. The first, however, attribute the differences in the lesions to the mode of infection, the quantity of the virus and the peculiar tendencies of the individual. The second, on the other hand, attach a considerable importance to the influence of inflammatory lesions, primarily non-tubercular.

The discovery of the inoculability of tuberculosis by Villemin in 1865, soon confirmed by Chauveau, (1868), and afterwards by various other observers, seemed to give easy means of testing this question; and when it was found *possible to induce general tuberculosis by the inoculation both of typical anatomical tubercles, and of the so-called degenerated or cheesy pneumonic products*, there seemed to remain no doubt as to the unity of phthisis. This belief was further strengthened, when 17 years later Koch *proved that all the products which Villemin had found to be capable of inducing tuberculosis contained a definite parasite—the bacillus tuberculosis*—and that inoculation with a pure cultivation of that bacillus was capable of inducing a typical attack of general tuberculosis.

Naturally enough it seemed that the presence of the *bacillus tuberculosis* was sufficient to establish the tuberculous nature of a lesion. It is my aim to show that however general the application of this rule may be, it is undoubtedly a source of confusion when one tries to understand the true meaning of certain pulmonary lesions.

2. *Primary pulmonary tuberculosis produced in animals by inhalation does not correspond in its mode of production to ordinary phthisis.*

Many clinical observers and anatomists have found it difficult to reconcile facts falling daily under their observations with the simple explanation given by Villemin. On the other hand the supporters of the contagion theory have done their best to prove experimentally the truth of their contention. Chauveau (1868), Gerlach (1870), proved how the lung may become affected secondarily to the intestine.

Tappeiner (1878) showed that the lungs might be affected primarily by making animals inhale air loaded with particles of dried-up sputa.

Weichselbaum attributed to the presence of the bacillus both the catarrhal and the infiltration changes found in tubercular lungs; and Verragut (1883), proved by microscopical examination that bacilli after being inhaled could be found in catarrhal cells. Putting aside for the present other no less important observations, it seems as if Laennec's views could hardly have been capable of more complete demonstration. I think, however, that Tappeiner's and Verragut's observations prove less than they seem to at first sight. Under ordinary circumstances it must be extremely uncommon for the bacillus to reach the lungs in any large quantity, and many people who have never become tuberculous have undoubtedly inhaled a certain number of bacilli. On the other hand, few people would continue, for any length of time, to breathe air loaded with muco-purulent expectorations, whether dried up and in the shape of dust, or in the more elegant form of spray.

But admitting that some unfortunate being had, through some extraordinary concurrence of circumstances, been obliged to submit to this process for even a short time, one would expect before any tubercular eruption some considerable amount of bronchitis or pulmonary inflammation, due less to the bacillus tuberculosis itself than to the irritation caused by the introduction of a large amount of foreign particles of various kinds, living and dead, which are found in all sputa. The intense discomfort and the evil effects caused by the breathing of any thick dust even for a short time are well known to all.

In this respect, therefore, the inhalation experiments differ considerably from the ordinary occurrences. On the other hand, the lesions produced are much too general to be comparable with anything but the acute forms of laryngeal, tracheal, and bronchial tuberculosis, and therefore do not correspond closely with a very great part of the class of cases which one has to elucidate.

Such experiments would lead one to doubt the well-established belief in the influence of heredity on liability to tuberculosis. In fact

Villemin, strongly impressed by the resemblance of tuberculosis to other infectious diseases, has gone so far as to doubt whether tuberculous antecedents did not actually act as a preservative (*Op. cit.*, p. 284).

Grancher has made most interesting experiments by which he tries to prove that scrofula is a disease originating like ordinary tuberculosis, but due to smaller doses of the virus. Arloing's observations are also most interesting in that respect, for they seem to show that *there is actually a difference of virulence between the so-called scrofulous products* (which do not produce tuberculosis when inoculated in rabbits, although they induce it in guinea-pigs) *and ordinary tuberculous products* (which induce tuberculosis both in rabbits and guinea-pigs). There is, however, nothing in these experiments which disproves the influence of the soil, but on the contrary a great deal indicating that the form which tuberculosis assumes in the body depends largely on peculiarities of the animal or organ affected.

3. *Some lesions, not essentially tubercular from the first, become complicated with tuberculosis after a time.*

It has long been admitted that the inhalation of irritating dusts induces pulmonary infiltrations (*Pneumokonioses*) which often terminate in consumption. It has been proved that the bacillus tuberculosis is present in such cases when they had become phthisical, and it has been argued that the phthisis was not a result of the inhalation of dusts, but was due to an accidental access of the bacilli tuberculosis. Johnes, 1883, found that *cows exposed to the vapours of iron foundries*, after inhaling a considerable amount of dust, were very liable to pulmonary affections which generally ended in tuberculosis.

For some reason or other, the *bacillus tuberculosis* has been found in the bronchopneumonic products of a large percentage of cases of measles (Thaon, Damaschino, Cornil and Babes, Landouzy, &c.) and this even when no other evidence of tuberculosis existed.

Babes has also shown that the peribronchial glands contain tubercle bacilli in most fatal cases of measles. He has also shown that in many fatal cases of scarlatina the bronchial and mediastinal glands were tuberculous.

Landouzy has been struck by the very considerable percentage of cases of *small pox* which became tuberculous.

Verneuil and Ramond and others consider that tuberculosis is often associated with *syphilis*.

A similar connection has also been recognised with *cancer*.

In the case of *leprosy* the relation is of a remarkable nature, and has given rise to important controversies which cannot be considered here.

Lancereaux has insisted on the influence which *alcoholism* has on the production of tuberculosis. He mentions 35 cases of alcoholism complicated with tuberculosis. It is interesting to notice, in connection with what I have to say, that only eight of these cases presented cavities and that in only ten had the tuberculosis become generalised (Atlas, 1871, p. 305).

The phthisis of *diabetic* patients is well known to all physicians.

I need not refer to more instances to prove that tuberculosis is very liable to arise in the course of other diseases.

I will now refer to some of my own observations. Impressed by the importance of predisposing lesions in tuberculosis, I have tried to discover cases in which the onset of tuberculosis could be traced. Such cases are very difficult to find, chiefly owing to the uncertainty attaching to most clinical observations. I think, however, I have found some cases in which the influence of non-tuberculous lesions on the tuberculous infection of the lungs could clearly be traced.

Drunkards are liable to attacks of pulmonary congestion which, under certain circumstances, may give rise to a pneumonia or hæmorrhagic consolidation of large tracts of the lungs.

I show sections of the lungs of a confirmed drunkard who died during an attack of acute alcoholism. It will be seen that large tracts of parenchyma are entirely filled up with blood and other more or less degenerated products. In this case there was no evidence of tuberculosis.

I show now another specimen taken from the body of a man pretty advanced in life (exact age not obtainable), who also died of the effects of alcoholism. Dr. Pearson, to whom I am indebted for clinical notes of this case, ascertained that there was no history of tuberculosis in the family. The man was apparently of strong constitution, but had long been addicted to drink, and had suffered accordingly. He began to be troubled with paroxysmal cough four years before his death; two years after he was distinctly bronchitic and emphysematous, but was not seriously ill from this.

It was only a few months before his death that the pulmonary symptoms took alarming proportions, yet there were no signs of phthisis; and it was only one month before death that evidences of pleurisy were detected.

After death it was found that the lungs were congested, but not so hæmorrhagic as in the last case. There were strong adhesions at the apex, one inch of which was indurated and contained some cheesy products with a few bacilli, but no definite miliary tubercles. In the lower part of the same lobe and along its anterior margin, and perfectly unconnected with the small apical patch of induration, there was a large infarct-looking mass measuring about two inches in length by one inch in depth. This patch was of uniform consistency, pale yellowish white, intersected by fibrous septa, and sharply separated from the surrounding lung tissue by a capsule quite similar to that found round an infarct undergoing cicatricial changes. The lung parenchyma all round this infarct, and in fact all through the lobe, showed no trace of tuberculosis; it was simply congested. Yet when scrapings and sections taken from various parts of that infarct were examined microscopically, they were found to be full of tubercle bacilli. These bacilli were uniformly distributed all through the patch in the midst of the decayed products occupying the alveolar cavities, as well as in the alveolar septa. There was nothing that resembled a tubercle, either in the midst or at the margin of the mass.

I show now a still more interesting section.

Dr. Lauder Brunton has kindly permitted me to refer to some of his notes of the case. The section was obtained from the lung of an elderly gentleman of fine physique and active habits, who for the last years of his life suffered from aortic aneurysm. About one year before his death the tumour pressing upon the trachea, bronchi, and pneumogastric nerves, gave rise to pulmonary symptoms of an obscure kind. At that time the sputa were examined by myself and found *free from tubercle bacilli*. *Some months before his death* I had again the sputa to examine, and then *bacilli were found abundantly*. At the *post-mortem* examination, I found that both lungs were filled with soft semi-purulent products. *Both vagi were pressed* upon in such way as to seriously interfere with the nervous supply of the heart and lungs (the heart was found in a state of advanced fatty degeneration). From *every part* of the lungs, the semi-purulent products (haemorrhagic at places) that could easily be obtained by squeezing, were found *teeming with tubercle bacilli*. Yet *nothing deserving the name of tubercle could be discovered in those lungs or anywhere else in the body*.

With facts of these kinds before one's mind, it seems difficult to reject the notion already propounded by Klebs, Biedert and Siegel, that the bacillary invasion must be preceded by some preparatory lesions. This, on the whole, is little more than an explanation of the views long held by the anatomical school (Reinhardt, Virchow, Niemeyer). On the other hand if it be admitted that phthisis, which affects 20 or 25 per cent. of all the leprosy patients, is due to the presence of a special bacillus, the bacillus lepræ, it must be also admitted that phthisis is not essentially a tuberculous process (unless the bacillus lepræ and the bacillus tuberculosis be one). If on the contrary this phthisis is considered as a process superadded to some previous other process, then it must be conceded that tuberculosis has occurred under the influence of these lesions. If this were not admitted, then because nearly all the fatal cases of measles are tuberculous, it would be necessary to admit also that nearly all the cases of death due to disease of this kind are really due to tuberculosis, or else that measles is a form of tuberculosis!

It seems to me that in all this the source of confusion is the criterion which is now received as proof of the existence of tuberculosis: *Everything that contains the bacillus tuberculosis is tuberculous*. But if such were the case, the test tube, containing a colony of tubercle bacilli growing on some nutrient material, would also be tuberculous! *Why not admit that bacilli can grow on decayed or dying products in the lung as well as in a test tube?* The conditions of soil, moisture, and heat are pretty much the same. How could, on any other hypothesis, be explained the fact that the whole of one lung or two lungs may become full of bacilli, from apex to base, without there being any tubercle to indicate the reaction of the tissues; for, after all, the tuberculous lesions are the only proof that there has been a specific reaction of the living tissues. The tubercle is undoubtedly a greater evidence of *tuberculosis* than the bacillus, notwithstanding the necessary presence of the bacillus. The

presence of the bacillus in any number simply shows that it has found a place where to grow; *the presence of a tubercle indicates that the living parts of the organism (i.e. the only parts that really form it) have become affected, and have begun to react.* There is no doubt that *besides the grey granulations and other recognised forms of tubercle originating in connective tissues, there are also other forms of lesions originating in epithelial structures and other tissues.* The specific characters of these are, however, less distinct, and not so well understood as those of the ordinary tubercle. On the other hand it is well known that there are several forms of *pseudo-tuberculosis*. Putting aside for a moment these complicating elements, which affect chiefly the diagnosis of individual cases, I think I am justified in sharing the views of some of the authors I have mentioned in believing that *pulmonary phthisis, as it is generally understood, is dependent for its production almost (if not quite) as much on the existence of lesions which offer a proper soil for the tuberculous invasion, as on the presence of the bacillus tuberculosis (without which, of course, the tuberculous lesion would never occur).* It is also evident that *the extent and the course of the tuberculous invasion must depend in great part on the nature of these pretubercular lesions.* Whether the destructive lesions which are so intimately associated with phthisis are the results of the tuberculous process only, or of a combination of the preliminary lesion and of the tuberculous process, is a question which would require a more lengthy discussion than the time at our disposal would make possible.

4. Conclusions.

From what I have said it will be evident that I believe that tuberculosis is a disease preventible not only by removing the Bacillus, a task which is apparently impossible, but by guarding the possible victims against invasion at the time when they are most likely to be affected. The prevention and treatment of these inflammatory processes which are likely to give a means of entrance to the bacillus, and the increasing of the resistance of the healthy tissues, are also objects to be attained and attainable, as shown by Wargunin's experiments. The remarkable indifference towards the initial inflammatory processes which has followed the discovery of the bacillus is, I think, a source of danger, which compensates in great part the considerable advance which has been obtained by that discovery. *So long as phthisis is considered as a purely tuberculous process, the danger of overlooking some chances of preventing its occurrence will exist. Tuberculosis is undoubtedly the cause of the generally progressive and fatal character assumed by the disease; but before tuberculous, there generally exist lesions which might undergo more favourable changes were not the tubercle bacillus allowed to step in and prosper.*

Contribution à l'Étude de la Tuberculose.

PAR

M. LE Professeur METCHNIKOFF, Paris.

Tandis que certaines espèces de bactéries se défendent en produisant des toxines très actives capables de tuer en très peu de temps l'organisme envahi, d'autres, moins toxiques, ont pour moyen de défense des parois épaisses et résistantes. C'est tout à fait comme dans le monde des organismes plus compliqués. Ainsi la cantharide avec ses ailes et sa peau molles est protégée par le poison qu'elle secrète, tandis que d'autres articulés, comme le homard, se défendent par une carapace très dure. Parmi les bactéries, le bacille du tétanos se rattache au type des cantharides, le bacille de la tuberculose à celui du homard. Comme l'a démontré pour la première fois M. Ehrlich, ce bacille possède une paroi épaisse grâce à laquelle il retient les couleurs avec une si remarquable énergie.

C'est grâce à cette membrane que le bacille résiste si bien dans l'organisme animal qu'il finit par tuer sûrement les espèces les plus insensibles à la toxine tuberculeuse, comme le cobaye et le cercopithèque. C'est pour la même raison aussi que surviennent ces récidives intenses chez des lupiques, habitués par le traitement de Koch à des doses considérables de la toxine.

Et pourtant l'organisme parvient et même assez souvent à se débarrasser du bacille de la tuberculose et à la détruire dans son sein. Comment expliquer cette résistance, dont l'homme présente des exemples parfois si remarquables?

Dans le but d'éclaircir un peu cette question, j'ai entrepris depuis plusieurs années des recherches sur la résistance naturelle des animaux contre le bacille de Koch.

Ne m'arrêtant point sur mes recherches antérieures sur ce sujet je veux attirer votre attention sur le cas d'un rongeur — d'une espèce de rat algérien, appartenant au genre *Meriones*. Pendant ces deux dernières années je suis parvenu à l'élever afin d'élargir le cadre de nos animaux d'expériences, trop peu nombreux pour le moment.

Le *Meriones* manifeste une résistance très marquée vis-à-vis du bacille de la tuberculose d'origine humaine, et cependant cet animal n'est point réfractaire. Inoculé avec une culture de ce bacille sous la peau de l'abdomen ou dans la chambre antérieure de l'œil, notre rongeur, qui pèse une centaine de grammes, se porte très bien pendant des mois, malgré que les bacilles se propagent du lieu de l'inoculation, envahissant d'abord les ganglions voisins et se répandant ensuite dans les organes abdominaux et les poumons. Dans la plupart de ces organes le bacille rencontre une résistance qui peut être poursuivie avec facilité. Cette réaction, dont l'efficacité se manifeste dans l'absence de foyers caséux et de nécrose du tissu tuberculeux est évidemment due à l'action phagocytaire des cellules géantes. Ces macrophages, après avoir englobé les

bacilles, les gênent dans leur vie en les imprégnant de substances, parmi lesquelles on reconnaît le phosphate de chaux. Il s'établit une véritable lutte entre la cellule géante et le bacille, parce que ce dernier ne reste point passif. Le bacille se défend en sécrétant des membranes dont le nombre devient parfois très considérable. Il se forme de la sorte toute une série de eouehes concentriques au milieu desquelles se trouve le corps du microbe. Dans la grande majorité des cas le bacille se divise en deux, mais ne peut que fort rarement se multiplier davantage. Généré d'abord dans sa reproduction, le bacille est ensuite complètement détruit, phénomène que l'on peut poursuivre dans toutes ses phases. Le bacille qui se colore d'abord facilement par les méthodes ordinaires devient de plus en plus pâle et finit par ne point se colorer du tout. Pendant un certain temps on voit encore à l'endroit où se trouvait le bacille un mince canal qui représente sa dernière trace; mais celle-ci disparaît aussi, et alors on ne voit que des eouehes concentriques imprégnées de phosphate de chaux.

L'interprétation que je donne de ces eouehes en les envisageant comme des générations successives de membranes sécrétées par le bacille, s'appuie sur l'identité des réactions chimiques avec les véritables enveloppes des bacilles tuberculeux (pris dans des cultures), sur la facilité avec laquelle elles retiennent la coloration et sur l'analogie avec d'autres phénomènes de sécrétions membraneuses par différents parasites gênés par les cellules amiboïdes.

Cet accroissement de la propriété de sécréter les membranes nous prouve que le bacille, englobé vivant, a été excité dans sa fonction sécrétoire malgré quoi il a été tué dans la cellule géante. Puisqu'il est incontestable que nous avons devant nous un exemple de destruction sous l'influence de la cellule géante d'un microbe aussi difficile à tuer dans l'organisme que l'est le bacille de la tuberculose, nous avons bien le droit d'enregistrer encore un cas de phagocytose réelle. Mais l'intérêt de cet exemple consiste surtout en ce qu'il nous fournit le moyen d'expliquer la résistance analogue de l'organisme humain. Depuis longtemps on a trouvé dans les ganglions tuberculeux des masses concentriques, dont la signification ne pouvait point être révélée. C'est surtout Sehüppel qui en a donné la description. Quoique je n'ai pas eu encore l'occasion d'étudier ces corps chez l'homme, mais leur analogie avec ceux du *Meriones* est tellement frappante, qu'on peut facilement prévoir qu'ils sont aussi des bacilles dégénérés.

L'exemple de notre rongeur peut donc servir pour éclairer les phénomènes de la résistance de l'homme vis-à-vis du virus tuberculeux, ce qui est d'autant plus important que chez le *Meriones* on pourra, à l'aide de la méthode expérimentale, étudier les conditions qui provoquent et facilitent cette résistance.



Quelques Considérations sur l'Hygiène de la Tuberculose.

PAR

Dr. FEJEDA, Mexico.

Parmi les maladies infectieuses, il n'y en a point une, dont l'étude soit aussi attrayante, aussi importante que celle de la tuberculose. Et cela d'autant plus, qu'il n'y a pas là seulement un intérêt clinique, mais qu'on se trouve en présence du problème si débattu de l'identité entre la tuberculose et la scrofule.

On sait depuis quelque temps, que la scrofule, n'est qu'une tuberculose atténuée, et la plupart de médecins sont enclins à établir l'identité de ces maladies. Suivant l'expression de Granelher, la tuberculose se rattache à la même famille morbide que la scrofule, et beaucoup de pathologistes croient que celle-ci n'est qu'une manière d'être de la tuberculose. Les travaux du Professeur Lannelongue sur la tuberculose osseuse, les expériences de Kiener, Arnold, etc., ont contribué à faire considérer les tumeurs blanches, les abcès froids et les ganglions caséeux, comme des affections tuberculeuses, bien avant la célèbre découverte de Koch. Nous voyons assez souvent une génération tuberculeuse, succéder à une génération strumeuse : ou, au contraire, des parents tuberculeux procréer des enfants strumeux. D'après Pidoux, la tuberculose serait une diathèse terminale, à l'égard de laquelle, la strume jouerait le rôle de diathèse initiale. Bouchard de son côté et avec lui bien des bactériologistes, acceptent au moins, que la scrofule prédispose à la tuberculose. Marfan, au contraire, a émis en 1886 cette opinion : que certaines tuberculoses locales préservent de la phthisie et vaccinent en quelque sorte ceux qui en sont porteurs. Il donnait comme preuve de cette opinion, la rareté de la phthisie chez les individus atteints de lupus, de tumeurs blanches, d'écrrouelles.

Cette opinion, en désaccord avec les travaux de Cornil et Babes, de Charrin, Darremberg, etc., est confirmée par l'observation clinique et la statistique de mon pays (Mexique). On y observe avec fréquence la scrofule sous toutes les formes et dans tous les degrés ; depuis les manifestations localisées à la peau, au tissu conjonctif sous-cutané et au ganglions lymphatiques, jusqu'aux manifestations dans le système osseux. Parmi les plus fréquentes, il faut signaler surtout, l'otorrhée purulente ou sero-purulente fétide, la rhinite chronique, la kérato-conjonctivite ulcéreuse atonique, et la coxo-tuberculose. Il peut s'écouler une longue suite d'années, avant que ces affections finissent par guérir, avec les progrès de l'âge, par des soins et un traitement appropriés ; mais en général les malades, tôt ou tard arrivent à la guérison. Si dans quelque cas, la vie est menacée, si le développement de la phthisie pulmonaire de la péritonite ou de la méningite se présentent, il faut remarquer que cela s'observe presque exclusivement dans la clientèle des pauvres et de l'hôpital, où l'on se heurte à une situation défavorable, difficile à écarter.

On ne doit pas s'étonner alors des mauvais résultats que l'on obtient. Dans ce cas, la phthisie pulmonaire provient plutôt des mauvaises conditions de l'hygiène, que de la scrofule, laquelle se termine par la guérison, lorsque le malade est placé dans de meilleurs conditions d'existence. C'est à dire, quand nous lui donnons une alimentation nourrissante et que nous lui faisons respirer, un air pur, dans des habitations saines, éclairées et bien aérées. Et même, si le petit malade (puisque la scrofule est l'apanage de l'enfance) continue à vivre sans aucune hygiène, la scrofule peut continuer à se développer avec plus ou moins d'intensité indéfiniment ; mais il est excessivement rare que le malade, devienne phthisique. Qu'il me soit permis de signaler à l'appui de ma thèse un exemple frappant : il y a dans le Mexique environ dix millions d'habitants dont le tempérament est généralement lymphatique : la scrofule est chez eux très commune, et pourtant la phthisie pulmonaire est rare. Et il faut remarquer en passant, la mauvaise hygiène de la basse classe de notre population, particulièrement au point de vue de l'alimentation, composée presque toujours de haricots, de piment et d'une boisson alcoolique appelée "*pulque*."

Je sais bien que à l'encontre de cette opinion, M. Bouchard dit : que tout le monde a vu, ou des tuberculoses cutanées, osseuses ou articulaires guéries, être suivies de phthisie pulmonaire, au *bout de plusieurs années*. Mais cela est tout à fait exceptionnel dans mon pays, et d'autre part, qui consentirait à prendre sur soi de garantir que pendant ce laps de temps, le malade ne s'est jamais trouvé exposé à une influence capable d'engendrer la tuberculose pulmonaire. Il ne faut pas oublier que l'immunité n'est jamais chose absolue ; il n'est aucune maladie qui ne puisse récidiver, même parmi celles qui paraissent conférer l'immunité la plus solide. Il ne faut pas oublier non plus, que notre entourage est contaminé à un haut degré par les spores du bacille de Koch et qu'une infection peut se produire, non seulement par les malades mais aussi par l'intermédiaire des objets les plus différents.

Les expériences de M. Arloing semblent établir que la virulence de la matière tuberculeuse, n'est pas la même suivant qu'on la recueille dans un poumon atteint de tuberculose vulgaire ou dans des ganglions et dans des articulations de ceux qu'on appelle les scrofuleux. Dans ce dernier cas, la tuberculose affecte des allures différentes de la tuberculose vulgaire. Cela se comprend sans peine. Nous savons en effet, que la vaccination d'une maladie produit l'imprégnation de l'économie, c'est à dire, l'immunité ; mais la bénignité de l'inoculation est obtenue grâce au soin, qu'on prend de circonscrire le développement du virus. Si la dissémination se fait d'emblée dans toute l'économie, on a une maladie générale plus grave que la maladie naturelle, de même que la syphilis congénitale est plus grave que la même maladie chez l'adulte dans les conditions ordinaires de la contagion. Tout ce qui facilite la diffusion rapide du virus, augmente la gravité de la maladie ; tout ce qui la circonscrit, assure la bénignité du mal sans amoindrir l'immunité qu'il confère.

La scrofule est donc plus ou moins intense et plus ou moins grave dans ses diverses manifestations, selon que sa dissémination se fait plus ou moins rapidement dans l'économie. Si elle reste circonscrite, ce qui est

la règle, elle constitue une immunité relative de la tuberculose pulmonaire; si au contraire, la serofule se généralise d'emblée à tout l'organisme, elle présente alors cette tendance des éléments ganglionnaires hyperplasiés à la caducité, à la néerobiose (dégénérescence caséuse), à la suppuration. Rien d'étonnant si dans ces conditions la phthisie pulmonaire éclate; le terrain est mis en état de réceptivité par la déchéance de l'économie. M. Jaecoud a dit avec raison, que la tuberculose pulmonaire est l'aboutissant commun de toutes les détériorations constitutionnelles de la famille et de l'individu.

Si tout cela n'est pas exact, si la serofule est vraiment une prédisposition à la tuberculose vulgaire, comme on le dit généralement, la phthisie pulmonaire serait excessivement fréquente dans le Mexique, où il est bien difficile de trouver une famille dans laquelle il n'y ait pas des serofuleux. Mais l'observation journalière nous démontre qu'il n'en est pas ainsi, tant s'en faut; tout au contraire, la phthisie pulmonaire y est quelque chose de rare, surtout dans le plateau du pays. Je le répète: il n'y a rien de plus commun que la serofule; je peux même dire, que le *tempérament lymphatique* constitue la caractéristique fondamentale de la race. Les enfants sont en général strumeux; il est exceptionnel qu'ils deviennent phthisiques.

D'après le Traité de Géographie médicale du Mexique de M. le Professeur Orvanaños, que j'ai sous mes yeux, les maladies qui y produisent le plus de mortalité sont les fièvres continues, (parmi lesquelles il faut signaler surtout le typhus exantématique) la pneumonie fibrineuse et les affections intestinales. La phthisie pulmonaire n'y présente une grande mortalité que dans quelques districts de la Sonora et de la Baja California, vers la frontière des Etats-Unis. Dans tout le reste du pays, qui est immense, la tuberculose pulmonaire est rare, malgré le tempérament strumeux et la mauvaise hygiène de notre population ouvrière.

Cepenelant, il est très probable, que l'immunité dont je viens de parler, ne provient pas seulement du tempérament de la race; car s'il est vrai que la phthisie pulmonaire est rare en général sur toute l'étendue du pays, elle est beaucoup plus rare encore, dans le grand plateau (sur la *Mesa central*), situé à plus de 2,000 mètres au dessus du niveau de la mer, et où il y a des villes très importantes, telles que Puebla, Mexico, Toluca, etc.

Tous les médecins de villes et de petits villages situés vers le littoral du golfe, ont assez souvent constaté la guérison de la tuberculose pulmonaire, quand les malades quittent leur pays et montent sur le plateau. Il y a des petites villes privilégiées, où l'on ne connaît la maladie, que par les étrangers qui y viennent pour se soigner. De même qu'en France, par exemple, on envoie les poitrinaires à Menton ou Cannes, chez nous on les envoie sur le plateau.

Il faut donc compter avec un autre facteur qui contribue dans une certaine mesure à y établir cette immunité; c'est la grande élévation au dessus du niveau de la mer. C'est un fait démontré par l'observation, et beaucoup de médecins du pays, M. le Professeur Liceaga en tête, ont depuis longtemps proposé la *Mesa central*, comme station la plus

favorable, non seulement pour la prophylaxie de la tuberculose pulmonaire, mais aussi pour le traitement hygiénique.

Il est bien entendu, que dans ce cas, nous envisageons le rôle des altitudes dans le traitement de la phthisie, seulement au point de vue de l'hygiène et nullement au point de vue de la bactériologie. Nous ne cherchons point pour les phthisiques l'air des altitudes, parce qu'il est dépouillé de microbes, puisque nous reconnaissons que cela est impossible, à moins d'isoler les malades de tout lieu social. De plus, ça serait absolument inutile, car les malades étant déjà phthisiques, la proximité d'autres tuberculeux est absolument indifférente. Nous les envoyons au grand plateau pour leurs faire respirer un air froid, mais sec, où le ciel est toujours clair, où le soleil n'est jamais absent; nous les faisons vivre continuellement au grand air, et enfin, nous employons de plus toutes les ressources hygiéniques.

De tout cela, je erois qu'il est logique de déduire deux conclusions pratiques de la plus grande importance :—

- 1°. La serofule dans certaines conditions encore mal déterminées, constitue une immunité relative de la phthisie pulmonaire.
- 2°. Les climats des altitudes sont utiles, non seulement pour la prophylaxie de la tuberculose pulmonaire, mais aussi pour son traitement.

Inoculated Tuberculosis in Snakes.

BY

WALTER K. SIBLEY, M.D., M.A. (From the King's College
Bacteriological Laboratory.)

The snakes experimented with were common English grass snakes. They were kept in glass jars open at the top and maintained at a temperature of about 35 degrees centigrade.

Snake A was inoculated subcutaneously with pure cultures of tubercle bacilli on June the 14th, July the 8th and 22nd, 1890. The reptile died 52 days after the primary inoculation. But little change was to be seen with the naked eye. The liver contained some very minute specks, and so also the lung in its middle third. The tissues were hardened in alcohol, and cut. Microscopically, the liver, without stain, showed a number of small dark exceedingly granular areas, each consisting of some 10 to 30 round cells, containing in their substance a very granular and pigmented substance. With picro or alum carmine these cells stained much less readily than the other cells of the organ. With Neelsen's method each of these granular cells was seen to contain a large number of tubercle bacilli. The lung showed small deposits, with regular margins on the internal surface of the alveoli, composed essentially of granulation tissue, with central

caseation commencing in some areas. A few epithelioid cells were seen in irregular groups apparently arising from the endothelium of the pulmonary alveoli. The process was seen to extend along the septa between the several alveoli. Most of these caseous deposits were crowded with tubercle bacilli; in other parts of the lung the tubercle bacilli were seen in many places in great numbers in isolated groups, each group apparently consisting of a cell filled with bacilli, many cells having two or more nuclei, and in most cases the bacilli formed a complete ring round the central nucleus. Thus in looking at a large area there appeared a number of small rings of bacilli, each ring distinct and separate from its neighbour. In other parts where there had been more extensive inflammatory changes, very large areas densely packed with bacilli were seen. On examining a layer of the serous membrane over the lung several small round cells filled with bacilli were seen in this.

Snake B was inoculated with a pure culture of the bacilli on June 14, and on July 8 and 22nd. The reptile died 71 days after the first inoculation. Microscopically no deposits were found in the lungs or pancreas. The liver, unstained, contained a number of small pigmented areas. In some parts of the organ these were seen to be in the walls of the branches of the portal vein. The areas were larger than those described in the first case, consisting, as before, of a number of small round cells each filled with tubercle bacilli. The spleen also showed a few deposits of the same nature, very nucleated, granular, pigmented, and containing tubercle bacilli.



Demonstration on a case of Tubercular Leprosy to show the different characters presented by the *Bacillus Lepræ* growing in the various organs of the same patient.*

BY

SHERIDAN DELÉPINE, M.B., B.Sc., Lecturer on Pathology, St. George's Hospital, London.



These organs exhibited were obtained from a case under the care of Dr. Cafavy at St. George's Hospital. The details of that case can be found in the Transactions of the Pathological Society for 1891. The specimens and the points demonstrated were the following :—

1. Sputa a few days before death.

Showing a large number of long slender bacilli, often in clumps and within cells, but not distinguishable from the *Bacillus Tuberculosis* by any morphological or chemical character. (Bacilli stain well and are not easily decolourised in dried films. Carbolised Fuchsin staining.)

* Given in the Bacteriological Museum.

2. *Contents of a pulmonary cavity.*

Showing an almost pure growth of bacilli which form masses of extraordinary magnitude; mixed with these bacilli are a few micrococci staining blue. The bacilli are generally long, and often curved.

(Bacilli stain quickly, and are not easily decolourised by acids when in dried films.)

3. *Cheesy mass of products accumulated within a small bronchus and surrounding alveoli.*

Showing in the midst of granular debris a colony of bacilli, with circinate border due to the growth of small peripheral daughter colonies. The bacilli occupying the centre of the colony are indistinct, and take the blue stain (methylene blue); the peripheral bacilli are long, arranged in fasciculated masses, and stained red by the fuchsin.

(Bacilli stain well, but are very easily decolourised by acids; they have a tendency to take the double stain (methylene blue).)

4. *Mucous membrane of the larynx and trachea, with small ulcerations (mucous glands).*

Bacilli abundant immediately under the epithelium, and in the granular debris forming the bottom of some ulcers. Most of these bacilli are short and thick. Many are in rounded masses (so called leprous cells); many are discrete. A few have penetrated into mucous glands.

(Bacilli stain well and rapidly, and are not easily decolourised by acids.)

5. *Striped muscle (Thyro-arytenoideus).*

Small clumps of very short and thick bacilli between muscular fibres; some bacilli seem to have penetrated under the sarcolemma. Some of these are so short and thick, that they look almost like large cocci, but they stain like the *Bacillus Lepre* in other parts of the body.

(Bacilli stain well and rapidly, and are not easily decolourised by acids.)

6. *Left ulnar nerve at the level of the elbow in a place where it was thickened and congested.*

Bacilli discrete and in clumps (leprous cells), chiefly in the perivascular lymphatics, but also in the lymphatic spaces and sheaths of the endoneurium, peri-, and epineurium. The white sheath of Schwann retains the fuchsin nearly as well as the bacilli, and it is difficult to say whether any bacilli are present in it. Great atrophy of nerve fibres, and increase of fibrous tissue, which is much congested.

(Bacilli stain moderately well, and are pretty easily decolourised by acids.)

7. *Cubital. Lymphatic ganglion.*

Very large masses of bacilli evidently occupying the lymphatic sinuses of the cortex. Bacilli discrete, and in oval clumps (so-called leprous cells) all through the ganglion.

(Bacilli stain rapidly, and are difficult to decolourise with acids.)

8. *Spleen.*

Clumps of short bacilli (indistinctly simulating leprous cells) often beaded, staining slowly, and being very easily decolourised by acids).

9. *Phalangeal joint.*

Small clumps (so-called leprous cells), of short bacilli in the inter-articular *fibro-cartilage*; none free in the synovial cavity; none in the *articular hyaline cartilage*.

10. *A bone (phalanx).*

Bacilli discrete, and in clumps, some of very large size and less compact than the ordinary so-called leprous cells, around the vessels in the Haversian spaces and canals. The whole medulla is teeming with bacilli. These are, generally speaking, short.

11. *Intestinal ulcers (large intestine).*

Large masses of bacilli in the granular débris forming the bottom of the ulcers, and also in the margin. These bacilli stain well, but are very easily decolourised, and take up methylene blue very readily.

12. *Section through the liver.*

Great abundance of small vacuolated masses of bacilli in Glisson's capsule all round the vessels, a few around intralobular capillaries. These bacilli are very short and beaded. They stain slowly, and bear decolourisation with sulphuric acid badly; they are, however, leprous bacilli.

13, 14, 15, 16, 17, *Skin of the fingers, wrist, ear, abdomen, and buttock.*

Skin apparently normal, but granular (wrist); fissured (finger); ulcerated (ear and buttock); tubercular and pigmented (abdomen).

Showing the usual absence of bacilli from all epithelial structures. A few bacilli in *sebaceous glands* and hair follicles. Absence of bacilli in the pus of most ulcers, abundance of them in one, where even leprous cells can be found in the discharge. Bacilli either discrete, short and thick, staining rapidly, and easily decolourised, or long and fasciculated in small or large vacuolated clumps (so-called leprous cells), staining well, but more slowly, and very difficult to decolourise with acid.

Conclusion.

These facts prove that the criteria generally received for distinguishing the *Bacillus Lepræ* from the *Bacillus Tuberculosis* are of doubtful value. Some of the facts which I have observed and demonstrated in this case are not generally received, yet I am able to demonstrate them easily in the organs described briefly above, and in others which are not mentioned here; the discussion of these points will be found in the communication already alluded to. I have, therefore, thought that my observations might be of use to those interested in leprosy, especially to those who have expressed opinions on the tuberculous or non-tuberculous nature of the pulmonary phthisis occurring so frequently in

leprous patients. It was, indeed, with a view of settling this question that I undertook a careful study of this case, thinking that a comparative study of the bacilli observed in the various organs of the same individual would prove useful.

On the Presence of Spores of the *Bacillus Anthracis* in the Air.

BY

R. WURTZ, M.D., Paris; and SAMUEL LODGE, Junr., M.D., Bradford.

One of us recently published in the *Archives de Médecine Expérimentale** several cases of broncho-pulmonary anthrax, which occurred amongst wool-sorters in Bradford. One of these cases was that of a female rag-picker, Catherine Hart, case 5, whose duty it was to tear up old clothes in a rag warehouse in Bradford. The warehouse was visited, and permission was obtained to remove dust from the floor where she had worked up to within 24 hours of her death. Dr. Wurtz and myself felt that the demonstration of the spores of the anthrax bacillus in the atmosphere of the warehouse would be an important addition to our knowledge of this formidable disease. The bacteriological examination of this dust succeeded in placing the presence of the anthrax spores in complete evidence. Plate cultivations were made. In order to exclude as much as possible other micro-organisms, which would have impeded the development of the anthrax colonies, the following method was adopted: About one cubic centimetre of the dust was put into a sterilised linen bag. The bag was then immersed in sterilized water for 15 minutes at a temperature of 80° C. The dust after this treatment was divided amongst a large number of gelatine tubes, with which plates were made and placed in the incubator at 26°. From three of the samples 18 plates were made. In the first sample examined two anthrax colonies were found; in the second, one; in the third, three. The colonies presented the characteristic "wig-like" appearance, and were very easily detected. The other colonies of common micro-organisms were in fact very scarce, a fact not surprising, considering the partial sterilisation of the dust which the process adopted entailed. The colonies were then sown in broth, gelatine, and agar; in each case pure cultures resulted. Guinea-pigs were inoculated from the pure cultures. Although the guinea-pigs exhibited after death the characteristic œdema at the site of inoculation, and the enlarged spleen and blood removed from the hearts in all cases showed the presence of anthrax bacilli, yet they did not succumb as easily as is usual, viz.:—four or five days elapsing instead of 56 hours. Undoubtedly, therefore, spores of the anthrax bacillus existed in the samples of dust examined, and consequently in

* *La Maladie des Trieurs des Laines*. (Charbon Broncho-Pulmonaire).
Samuel Lodge, Junr., page 758.

the air of the room where the dust had been gathered. The facts disclosed seem to us extremely interesting, because in the first place the mode of contagion of broncho-pulmonary anthrax is shown in a direct way; and secondly, because, bacteriologists have up to the present been unable to demonstrate the presence of pathogenic micro-organisms in the air, except in a few cases. Those already demonstrated are as follows:—

Sterptococcus of erysipelas (Emmerich).

Staphylococcus Pyogenes Aureus.

Pneumococcus of Friedländer.

Bacillus of Tuberculosis (Cornet).

We have, therefore, deemed it useful to submit this present report.

Friday, 14th August 1891.

The Chair was occupied by

The President: Sir JOSEPH LISTER, Bart.

Ueber Desinfection am lebenden Organismus.

VON

Stabsarzt Dr. BEHRING, Assistent am Institut für Infektionskrankheiten, Berlin.

Wenn wir unter Desinfection das Unschädlichmachen der Infektionsstoffe zu verstehen haben, so gehört das was ich Ihnen an dieser Stelle mitzutheilen gedenke, durchaus in das Programm des heutigen Tages, obwohl es sich dabei nicht um hygienisch-prophylaktische, sondern um medicinisch-therapeutische Dinge handelt.

Ich will Ihnen nämlich einige Thatsachen hier vorführen, welche zeigen, wie durch die Anwendung von desinficirenden Mitteln Infektionsstoffe im lebenden Thierkörper unschädlich gemacht werden können.

Die Mittel, welche man im Laufe der Jahrhunderte angewendet hat, um diejenigen Krankheiten, welche wir jetzt den Infektionskrankheiten zurechnen, zu heilen, sind unzählige. Die Geschichte derselben ist die Geschichte der Medicin.

Entsprechend der wechselnden Auffassung von der Natur der hier in Frage kommenden Krankheiten hat man das Nervensystem, die Herzthätigkeit, die Ernährungsorgane, die Hautthätigkeit zu beeinflussen gesucht, um den Ausbruch einer Krankheit zu verhüten oder die manifest gewordene zu heilen.

Auch nach specifischen Mitteln, welche die Krankheit *im Keime ersticken* sollten, hat man von jeher gesucht und einige auch gefunden, so das Chinin, das Quecksilber, das Jod, die Salicylsäure.

Seitdem man weiss, dass die Infectionskrankheiten durch belebte Krankheitskeime hervorgerufen werden und seitdem die obengenannten Mittel als energische Antiseptica bekannt sind, neigt man sich vielfach der Ansicht zu, dass die Heilwirkung gegenüber der Malaria, der Syphilis, dem Gelenkrheumatismus durch eine direkte Beeinflussung der Krankheitsursachen zu Stande komme.

Indessen dürfen wir uns nicht verhehlen, dass der Beweis dafür noch keineswegs geliefert ist.

Solange, als noch nicht ausserhalb des kranken Menschen zahlen mässig die abtödtende oder entwicklungshemmende Wirkung des Chinins auf die Malariaparasiten einwandsfrei gezeigt werden kann, solange ist auch der Einwand, dass die Chininwirkung auf irgend welehem indirecten Wege zu Stande komme, nur mit grösserer oder geringerer Wahrscheinlichkeit zurückzuweisen.

Von der Syphilis und dem Gelenkrheumatismus aber sind noch nicht einmal soweit, wie bei der Malaria, die krankmachenden Ursachen bekannt, und wir haben deswegen vorläufig noch weniger Aussicht, als beim Wechselfieber, die Frage zu entscheiden, in welcher Weise die hier in Betracht kommenden Heilmittel wirken.

Diejenigen Versuche aber, welche früher angestellt wurden, um bei Bakterien-Krankheiten mit genau bekannter Aetiologie mit bakterienfeindlichen Mitteln Heilerfolge zu erzielen, z. B. bei milzbrandinficirten Thieren und bei tuberculösen Thieren und Menschen, scheiterten zunächst gänzlich.

Ganz besonders entmutigend wirkten dabei die beim Milzbrand gemachten Beobachtungen, welche zu beweisen schienen, dass desinficirende Mittel im lebenden Organismus ihre Wirkung verlieren. Als nämlich milzbrandinficirten Meersehweinchen Sublimat in solcher Menge einverleibt wurde, dass man, nach den in künstlichen Nährböden constatirten Wirkungen dieses Mittels auf Milzbrandbacillen, eine Vernichtung oder wenigstens eine Entwicklungshemmung auch im Meersehweinchenkörper hätte erwarten sollen, da zeigte sich, dass die behandelten Thiere ebenso schnell starben und ebensoviel Milzbrandbacillen im Blut hatten, wie die Controlthiere.

Es kann nicht Wunder nehmen, dass nach dem ungünstigen Ausfall dieser Experimente die Enttäuschung in medicinischen Kreisen zum Ausdruck kam.

Am lebhaftesten geschah das im Jahre 1883 auf dem Congress für innere Medicin in Wiesbaden, wo der Satz proklamirt wurde, dass eine Desinfection im Innern des Organismus überhaupt unmöglich sei, und wo unter Zustimmung der versammelten Kliniker constatirt wurde, "dass noch jeder befruchtende Gedanke und jede Methode fehle, " mittelst derer wir hoffen könnten, durch Laboratoriumsversuche auch " nur einen Schritt in der Heilung der noch nicht abortiv heilbaren " Infectionskrankheiten weiter kommen zu können." Als einzigen Aussicht versprechenden Weg zu neuen Heilmitteln zu gelangen, sah man damals den rein empirischen an; um auf demselben schneller zum Ziele zu gelangen, wurde ein gemeinsames Vorgehen beschlossen in

Form "der empirischen Sammelforschung," und es trat auch alsbald zur Inangriffnahme einer solchen eine Commission zusammen.

Mir scheint, als ob im Laufe der wenigen seitdem verflossenen Jahre die Situation sich wesentlich geändert hat.

Was den Werth der Laboratoriumsexperimente betrifft, so sprechen Pasteur's Heilresultate bei tollwuthinfectirten Menschen und Koch's Behandlung der Tuberculose dafür, dass dieselben doch wohl eher Aussicht bieten, specifische Heilmittel auffinden zu lassen, als die empirische Sammelforschung, und auch die Prophezeiung, dass eine allgemeine innere Desinfection unmöglich bleiben werde, würde jetzt vielleicht nicht mehr mit solcher Sicherheit ausgesprochen werden, nachdem durch Thierversuche der Beweis geliefert ist, dass wir im Stande sind, beim Milzbrand, beim Tetanus, bei der Diphtherie, beim Schweinrothlauf die specifischen Infectionsstoffe auch im Innern des erkrankten Organismus direct zu treffen und unschädlich zu machen.

Es kommt dabei wenig darauf an, ob wir bei den letztgenannten Heilwirkungen, die mit dem Blut immunisirter anderer Thiere erzielt werden können, die Bakterien direct beeinflussen, oder ob wir die krankmachenden Wirkungen ihrer Stoffwechselproducte paralysiren.

Ich glaube ein Recht zu haben, beides als eine Desinfection im lebenden Organismus zu bezeichnen.

Die Anwendung des Wortes "Desinfectionsmittel" ausschliesslich auf solche Körper und Kräfte, welche Bakterien, und zwar alle, auch die widerstandsfähigsten Dauerformen derselben zu tödten vermögen, ist meines Erachtens nicht mehr aufrecht zu erhalten.

Bei einer solchen Begriffsbestimmung, welche *bacterientödtende* und *desinfectirende* Wirkung identificirt, begeht man einen zweifachen Fehler; einmal nämlich darin, dass die Infectionsstoffe nicht bacterieller Art unberücksichtigt bleiben, so dass also der Begriff zu eng gefasst ist; zweitens aber wird dabei der Begriff der Desinfection in unberechtigter Weise auf die Vernichtung auch von solchen Organismen ausgedehnt, die keine nachweisliche Beziehung zu menschlichen oder thierischen Infectionen haben.

Es sind aber noch andere Gründe, welche die alte Terminologie unzulänglich erscheinen lassen müssen. Es giebt bekanntlich Blutarten, deren zellfreies Serum gegenüber einigen Bakterien eminente abtödtende Kraft besitzt. Selbst Milzbrandsporen können im Serum abgetödtet werden, was einer Leistung entspricht, die durch eine 1‰ige Sublimatlösung nicht erreicht wird. Wenn man ferner das Blut einer milzbrandimmunen Ratte auf das Blut oder auf ein kleines zerquetschtes Organstückchen eines an Milzbrand verendeten Thieres mehrere Stunden lang einwirken lässt, so verlieren die unzählig darin vorhandenen Milzbrandbacillen ihre Infectiosität, und der Culturversuch beweist, dass dieselben abgetödtet sind.

Man müsste der Sprache Gewalt anthun, wenn man das nicht als eine Desinfectionsleistung anerkennen wollte; und doch lassen sich jene Wirkungen nicht unter den jetzt festgehaltenen Begriffsinhalt des Wortes "Desinfection" unterbringen; denn eben dasselbe Blut besitzt

aneh nicht die Spur einer abtödtenden oder auch nur entwicklungshemmenden Fähigkeit gegenüber den sonst so leicht zu vernichtenden Streptococcen des Erysipels oder gegenüber den Diphtheriebacillen; solche Mittel, die nur auf eine oder wenige Arten von Infectionserregern wirken, sind aber nach dem gegenwärtigen Sprachgebrauch keine richtigen Desinfectionsmittel, weil sie ja nicht einmal alle sporenreien Bakterien zu tödten vermögen.

Und doch sind solche *specifisch* wirksamen desinficirenden Agentien gerade diejenigen, von denen wir uns für die Behandlung des inficirten lebenden Körpers viel mehr Erfolg versprechen dürfen, als von den allgemeinen Desinfectionsmitteln.

Man kann weiterhin den pathogenen Bakterien, die inficirende Fähigkeit dauernd rauben, ohne sie abzutödten; Milzbrandbacillen beispielsweise soweit abschwächen, dass sie unter keinen Umständen mehr eine Infection hervorrufen; auch mit dieser Wirkung müssen wir rechnen, wenn wir am lebenden Organismus durch directe Beeinflussung der Krankheitserreger Heilwirkungen hervorbringen wollen; und ich glaube, wenn bei einer Infectionskrankheit die Heilung durch eine solche Abschwächung, d. h. durch die Aufhebung der krankmachenden Eigenschaften des in Frage kommenden Krankheitserregers erreicht würde, so muss auch das zur Desinfection am lebenden Organismus gerechnet werden.

Und so bezeichne ich es auch als Desinfectionsleistung, wenn eine Krankheit dadurch geheilt wird, dass die specifischen Stoffwechselproducte des Krankheitserregers unschädlich gemacht werden; *so dass für die Verhältnisse am lebenden Organismus alle diejenigen Mittel zu den Desinfectionsmitteln nach meiner Auffassung zu rechnen sind, welche durch directe Einwirkung die lebenden Krankheitserreger oder ihre krankmachenden Stoffwechselproducte unschädlich machen. Nach alledem haben wir folgende Möglichkeiten im lebenden Organismus desinficirend vorzugehen:*

1. *durch die Abtödtung der lebenden Krankheitserreger,*
2. *durch die Wachstumsverhinderung derselben,*
3. *durch die Aufhebung ihrer infectiösen Eigenschaften, welche ich mir dadurch zu Stande kommend denke, dass den pathogenen Bakterien die Fähigkeit genommen wird, krankmachende Stoffwechselproducte zu liefern,*
4. *durch die Zerstörung, bezw. das Unschädlichmachen der von den Krankheitserregern im inficirten Organismus producirten krankmachend wirkenden Stoffe.*

Dem gegenüber kann man sich auch vorstellen, dass weder die Vitalität noch die funktionellen Eigenschaften der Krankheitserreger direct durch heilende Agentien beeinflusst werden, und dass auch ihre specifischen krankmachenden Produkte keine Veränderung erleiden, dass vielmehr die Heilung durch eine solche Veränderung der Centralorgane oder der lebenden Zellen zu Stande kommt, die eine höhere Widerstandsfähigkeit derselben gegen die von den Krankheitserregern erzeugten Nerven und Zellgifte im Gefolge hat.

Eine solche Möglichkeit ist aber bisher noch nicht einwandfrei bewiesen worden, während für die oben von mir postulirten 4 Heilungsmodalitäten sich concrete Beispiele anführen lassen, die ihr thatsächliches Vorkommen nicht mehr in Zweifel ziehen lassen.

Das ist auch der einzige Grund, aus welchem ich diese theoretischen Auseinandersetzungen bringe und auf dieselben Werth lege.

Nach diesen Vorbemerkungen will ich dazu übergehen, am Milzbrand und an der Diphtherie die bisher bei diesen Infectionskrankheiten durch desinficirende Agentien erreichten Heilwirkungen zu analysiren.

Ich beginne dabei mit Heilresultaten, welche Herr Dr. Knorr im *Berliner Hygienischen Institut* neuerdings bei gemeinsamer Arbeit mit mir an milzbrandinfectirten Mäusen bekommen hat.

Wenn man ein hirsekorngrosses Stückchen von der Milz einer an voll virulentem Milzbrand frisch verendeten Maus in 5 ccm. Bouillon verreibt und davon 0·1 ccm. einer anderen Maus unter die Haut spritzt, so stirbt dieselbe in spätestens 24 Stunden an Milzbrand.

Der Eintritt des Milzbrandtodes lässt sich aber hinausschieben und auch gänzlich verhüten durch nachträgliche Injectionen einer Mischung von Sublimat- und Natriumchloroborosumlösungen.

Mischt man 1 Theil einer 0·04% Sublimatlösung mit 3 Theilen einer 10% Lösung von Natriumchloroborosum und macht an derselben Stelle, an welcher die Milzaufschwemmung eingespritzt wurde, davon alsbald hinterher eine Injection von 0·4 ccm., so tritt der Tod erst nach mehreren Tagen, bis zu 8 Tagen ein. Häufig ist dabei das Auftreten eines starken subcutanen Oedem, welches bei den nicht behandelten Mäusen fehlt. Bei der Section findet man in dem Oedem spärlich, in dem Blut und in den Organen reichlich Milzbrandbacillen; die Milz ist sehr gross, meist mindestens doppelt so gross, wie die Milzbrandmilz nicht behandelter Mäuse.

Wird die subcutane Injection der Sublimat-Natriumchloroborosumlösung an den 8 der Injection folgenden Tagen wiederholt, so geht das subcutane Oedem langsam zurück, und es entsteht an der Injectionsstelle eine locale Neerose, die allmählich nach der Abstossung des neerotisirten Hautstückchens mit glatter Narbe in 25 bis 30 Tagen verheilt. In vereinzeltten Fällen kann noch nach 15 bis 20 Tagen der Tod an Milzbrand erfolgen; ca. 50% der behandelten Mäuse bleiben aber dauernd am Leben. Ist die Infection weniger stark und werden zur Behandlung ausgewachsene *grosse* Mäuse ausgewählt, so lässt sich die Heilung der Mäuse mit grosser Sicherheit erreichen.

Diese Behandlung wurde mannigfaeh modificirt, namentlich auch nach der Richtung, dass sie nicht sofort, sondern erst einige Zeit nach der Infection begonnen wurde; bei derartig infectirten Mäusen, dass sie ohne Behandlung in 18–24 Stunden sterben, wurde jedoch ein Heilerfolg nicht mehr erzielt, wenn die erste medicamentöse Einspritzung später als höchstens 2 Stunden nach der Infection gemacht wurde.

Diese Versuchsergebnisse sind in mehrfaeher Hinsicht lehrreich.

Wenn wir uns fragen, wie bei dieser Localbehandlung die Heilung zu Stande kommt, so lässt sich eine einfache Antwort nicht geben.

Dass durch die Injectionen die Milzbrandbacillen nicht direct abgetödtet werden, geht daraus hervor, dass man aus der subcutanen Oedemflüssigkeit Milzbrandculturen heranzüchten kann. Auch eine Abschwächung findet nicht statt; denn mit der Oedemflüssigkeit solcher Mäuse, die später geheilt werden, können andere Mäuse inficirt werden; mit 2–3 Platinösen dieser Flüssigkeit in eine kleine Hauttasche an der Schwanzwurzel geimpfte frische Mäuse sterben an typischem Milzbrand, wenngleich entsprechend der geringen Zahl von verimpften Bacillen erst nach einigen Tagen.

Sicherlich tritt infolge der Behandlung eine locale Wachsthumshemmung, vielleicht auch partielle Abtödtung der Bacillen ein; aber wir müssen daneben annehmen, dass die Einspritzungen allgemeine Veränderungen derart hervorrufen, dass im Blut und in den Organen das Milzbrandwachsthum verhindert wird; es ist sonst nicht einzusehen, warum die Bacillen im Oedem, welche ja bei nicht behandelten Mäusen, nach ihrer Verimpfung, in die Blutbahn gelangen, sich reichlich vermehren und den Milzbrandtod herbeiführen, nicht auch bei den behandelten Thieren vom Lymphstrom und Blutstrom aufgenommen werden und im Innern des Mäusekörpers sich vermehren sollten.

Gleichwohl gelingt die Heilung milzbrandinfectirter Mäuse nicht, wenn jene Mischung entfernt von der Infectionsstelle eingespritzt wird.

Indessen dieses negative Ergebniss spricht nicht gegen die Allgemeinwirkung der Sublimat-Natriumchloroborosumlösung; wir wissen nämlich, dass Milzbrandbacillen, welche der Einwirkung von Desinfectionsmitteln unterlegen haben, die noch nicht zur Abtödtung genügen, schon durch viel geringere Mengen eines Mittels im neuen Nährboden an der Entwicklung gehemmt werden, wie normale Milzbrandbacillen. Um so beeinflusste Milzbrandbacillen aber handelt es sich hier in der That, wo im Mäusekörper *örtlich* jene Mischung auf dieselben einwirkt. Da ist es denn möglich, dass schon sehr kleine Mengen, des Mittels, die in die Blutbahn aufgenommen werden und dann bei den fortgesetzten Injectionen dauernd darin circuliren, eine Wachsthumshemmung im Blut und in den Organen zu Stande bringen, während dieselben Bacillen im Blute nicht behandelter Mäuse sich vermehren und den Tod der Thiere herbeiführen.

Die therapeutische Leistung, welche ich Ihnen hier bei einer sicher und in kurzer Zeit tödtlich wirkenden Infection mittheilte, darf nicht gering angeschlagen werden.

Ich habe im Laufe der letzten 4 Jahre fast ununterbrochen mit mehr als 100 Mitteln und an weit über 1,000 Thieren Milzbrandheilungsversuche gemacht ohne einen derartigen Erfolg. Ausser mit Höllensteinlösungen habe ich nur noch mit wenigen Mitteln den Verlauf einer solchen Milzbrandinfection, wie ich sie oben beschrieben habe, also bei unverletzter Haut, überhaupt günstig zu beeinflussen vermocht; es gelang meist nur, den Milzbrandtod hinauszuschieben.

Bei grösseren Thieren, z. B. bei Kaninchen, namentlich wenn sie, wie diese, an sich schon eine grössere Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Milzbrand besitzen, gelingt eine Heilung noeh eher; aber bei Mäusen muss ich nach meinen Erfahrungen solche Heilresultate, wie man sie mit der Mischung von Sublimat- und Natriumchloroborosum-lösung bekommen kann, als ausserordentlich günstige bezeichnen. Weder mit dem Sublimat allein, noch mit dem Natriumchloroborosum allein lassen sich solche Heilwirkungen beim Milzbrand erreichen; das letztere Präparat jedoch hat an sich schon eine sehr erhebliche Leistungsfähigkeit und ein kleiner Procentsatz von definitiven Heilungen ist bei lange fortgesetzten vergleichenden Untersuchungen auch bei ihm allein zur Beobachtung gekommen.

Ueber die Erklärung der potenzierten Wirkung der Mischung beider Präparate wird eine Specialarbeit Genaueres bringen.

An dieser Stelle will ich nur mittheilen, dass in der Mischung, wenn sie *frisch* bereitet ist, sich die bakterienfeindlichen Wirkungen der beiden Präparate nicht bloss addiren, sondern, dass sich ein Multiplum der zahlenmässig ausdrückbaren Werthe constatiren lässt. Die Giftigkeit aber des Hauptbestandtheils, nämlich des Natriumchloroborosum, nimmt durch den Sublimatzusatz gar nicht zu.

Ich habe diese Dinge ausführlicher besprochen, weil ich glaube, dass wir auf dem Wege der *Composition von mehreren therapeutischen wirksamen Körpern* noeh manches Neue und praktisch Wichtige finden werden. Die Sache selbst ist ja uralt und neuerdings auch von anderen Seiten, namentlich von Henle schon wissenschaftlich geprüft. Für die Wundbehandlung ist speciell das Quecksilberchlorid von Herrn Lister mit Zink zusammen empfohlen worden, und ich kann gegenwärtig die Erhöhung seiner Wirkung durch den Zinkzusatz bestätigen. Dass aber nicht *jeder* Zusatz verbessernd in dieser Richtung wirkt, mögen sie aus der Thatsache entnehmen, dass das von Herrn Laplace empfohlene Weinsäuresublimat eine grössere relative Giftigkeit besitzt, als das einfache Sublimat.

Wie beim Milzbrand sind von mir selbst und von mehreren Herren im Berliner hygienischen Institut, in Gemeinschaft mit mir, auch bei anderen Infectionen therapeutische Versuche gemacht worden.

In allen Fällen wurde die Infection durch *subcutane Injection* des Infectionsstoffes bewirkt, wobei die Menge und Virulenz desselben so gewählt wurde, dass die Controlthiere ganz sieher in 24 Stunden bis 48 Stunden starben.

Ueber die therapeutischen Resultate, welche bei *tetanusinfectirten* Thieren bekommen wurden, hat Herr Kitasato, schon ausführlicher berichtet.

Ueber *Diphtherieheilung* mit Chemikalien von bekannter chemischer Zusammensetzung habe ich selbst schon früher Mittheilung gemacht und wird demnächst Herr Sanitätsrath Dr. Boer noeh weitere Daten bringen, auf Grund von Untersuchungen von mehr als 40 verschiedenen Präparaten und an 400 Meerschweinchen.

Ich will hier nur anführen, dass bei diesen beiden Infectionen 1 bis 2%ige Jodtrichloridlösungen von hervorragender therapeutischer

Wirkung gewesen sind, bei der Diphtherie ausserdem auch das Goldnatriumchlorid und Zinkpräparate.

Die Mittel, welche in den mitgetheilten therapeutisch desinficirenden Versuchen sich am meisten wirksam erwiesen haben, sind solche, welche zum Theil beim Menschen zur Behandlung local beginnender Infectionen, wie beim Erysipel, bei Phlegmonen, Lymphangitiden, beim Milzbrand, bei puerperalen Infectionen, noch nicht systematisch geprüft sind; die Zukunft wird es lehren, ob nicht bei vorurtheilsfreier Inangriffnahme der Therapie dieser Krankheiten mit methodisch im Laboratorium an Thieren studirten Desinfectionsmitteln die Heilresultate bessere werden, als sie es jetzt sind.

Seitdem Herr Lister gelehrt hat, bösartige Wundinfectionen zu verhüten, kommt ja der Arzt seltener in die Lage, jene Krankheiten zu behandeln, als in früheren Zeiten. Trotzdem wird aber das Bestreben, inficirtes lebendes Gewebe local zu desinficiren, ohne eingreifende und verstümmelnde Operationen, ein sehr wünschenswerthes Ziel bleiben.

Wenn nun die Hoffnung, diesem Ziele näher zu kommen, ursprünglich für die Ausführung der mitgetheilten Thierversuche massgebend gewesen ist, so kam doch im weiteren Verlaufe derselben noch ein ganz neues Moment hinzu, welches zu ihrer unermüdlichen Fortsetzung und zur Ausdehnung auf verschiedenartige Infectionen Veranlassung gab, ich meine die zuerst bei diphtheriegeheilten, dann bei tetanusgeheilten Thieren gemachte Beobachtung, dass die Thiere nach definitiv erfolgter Heilung einen mehr oder weniger ausgesprochenen Grad von Immunität gegen die gleiche Infection bekommen und die weitere Beobachtung, dass mit dem Blut der geheilten Thiere sich therapeutische Resultate erzielen lassen, wie sie bisher noch nicht bei sehr schnell tödtlich verlaufenden Krankheiten erreicht sind.

Es besteht ein durchgreifender Unterschied zwischen der heilenden Leistungsfähigkeit der bisher bekannten übrigen Desinfectionsmittel und der des Blutes von immunisirten Thieren.

Jene Mittel, auch die besten unter ihnen, lassen einen einigermaßen sicheren Heilerfolg nur erwarten bei directer Einwirkung auf local beschränkte Infectionen; das Blut immunisirter Thiere vermag dagegen auch auf solche kranken Körpertheile einzuwirken, die von seiner Applicationsstelle weit entfernt liegen, und zwar noch zu einer Zeit, in welcher die Wirkung der Infection schon in allgemeinen Krankheitserscheinungen zum Ausdruck gekommen ist.

Vom Tetanus wissen Sie durch meine mit Herrn Kitasato gemeinsam gebrachte Mittheilung, dass die Heilung inficirter Mäuse mit dem Blut tetanusimmunisirter Kaninchen auch dann noch gelingt, wenn schon alle Extremitäten vom Starrkrampf ergriffen sind.

Bei diphtheriekranken Thieren konnte ich früher therapeutische Leistungen mit dem Blute diphtherieimmunisirter Thiere noch nicht anführen; es war mir zur Zeit des Erscheinens meiner Diphtheriearbeit noch nicht gelungen, jenen hohen Grad der Immunität bei ursprünglich diphtherieempfindlichen Thieren zu erzeugen, welcher

erforderlich ist, wenn man mit dem Blut derselben andere Thiere von der Diphtherie heilen will.

Zum Zweck des gegenseitigen Verständnisses bezüglich des Grades der Immunität ist es sehr wünschenswerth, denselben zahlenmässig zu bestimmen, und ich kann hierfür eine Art der Bestimmung empfehlen, welche zuerst Herr Professor Ehrlich bei der erworbenen Immunität von Thieren gegen giftige Pflanzeneiweisse angewendet hat.

Für die Diphtherieimmunität habe ich danach folgende Bezeichnungen gewählt.

Ich gehe von derjenigen Minimaldosis einer lebenden Diphtherie-cultur aus, welche—bei subcutaner Injection am Rücken—ein ausgewachsenes Meerschwein nicht bloss krank macht, sondern auch den Tod desselben in 4–5 Tagen herbeiführt.

Habe ich nun ein Meerschweinchen soweit immunisirt, dass es zwar noch an der Stelle der Infection mit Oedembildung und nachträglicher Infiltration reagirt, aber am Leben bleibt und schliesslich ganz gesund wird, so besitzt dasselbe, wie ich mich nach Ehrlich's Vorgang ausdrücke, eine Immunität=1.

Von derjenigen Cultur, die ich mit Stabsarzt Wernicke seit längerer Zeit benutze, ist diese sicher tödtliche Minimaldosis 0·025 cem.; übersteht nun ein Meerschweinchen die Infection mit 0·1 cem., so hat es eine Immunität=4; verträgt es noch 0·5 cem., dann ist die Immunität=20 u. s. w.

In derselben Weise kann man auch die Immunität gegen das Diphtheriegift ausdrücken.

Für gewöhnlich benutze ich dasselbe in Form eines keimfreien Filtrats 3 Monate alter Diphtheriebouilloneulturen, die gegenwärtig einen solchen Grad der Giftigkeit besitzen, dass ausgewachsene Meerschweinchen mit Sicherheit nach 4–5 Tagen unter den charakteristischen Erscheinungen der Diphtherie sterben, wenn sie 0·15 cem. Filtrat subcutan am Rücken injicirt bekommen. Uebersteht nun ein immunisirtes Meerschweinchen die Injection von 0·3 cem., so hat es die Diphtheriegiftimmunität 2 u. s. w.

Ich will an dieser Stelle hinzufügen, dass mit 0·15 cem. nicht etwa die Grenze der Giftigkeit der keimfreien Cultur erreicht ist.

Von eben demselben Filtrat habe ich ausgewachsenen Meerschweinchen den 15ten Theil, also 0·01 cem., eingespritzt und sah dieselben zuerst local mit Oedem reagiren, danach krank werden und abmagern; nach sehr langer Zeit können solche Meerschweinchen dann auch noch an Vergiftung mit dieser geringen Dosis sterben.

Mit der Mittheilung dieser immensen Giftigkeit bestätige ich übrigens bloss, was Roux und Jersin schon früher angegeben haben. Gelegentlich der Beobachtung dieser Eigenschaft des Diphtheriegiftes, welche mir zuerst als auffallend und neu imponirte, ist es mir wie bei vielen anderen gegangen, dass nämlich die gleichen Dinge nebenher schon in den Abhandlungen von Roux und Jersin erwähnt sind; und ich darf wohl sagen, dass die Diphtherieuntersuchungen jener Forscher

zu jenen klassischen Arbeiten gehören, an denen man um so mehr lernen kann, je mehr eigene Erfahrung man für das Studium derselben mitbringt.

Sehr oft werden wir an der genauen Bestimmung der Immunität dadurch verhindert, dass wir das zu prüfende Thier nicht krank machen wollen; in solchen Fällen lässt sich daraus, dass ein immunisirtes Thier eine bestimmte Dosis reactionslos verträgt, schliessen, dass auch das Doppelte derselben keinenfalls den Tod herbeiführen würde.

Die *quantitative* Bestimmung der Immunität gewährt nach mehrfacher Richtung grosse Vortheile. Sie wird namentlich dazu beitragen können, die Ursache für differirende Resultate in Bezug auf die Heilwirkungen des Blutes immunisirter Thiere aufzufinden.

So haben Herr Kitasato und ich mit dem Blute eines tetanusimmunisirten Kaninehens, welches eine Immunität von mindestens 40 besass (wahrscheinlich aber noch viel mehr, da es das 20fache der für nicht behandelte Kaninehen tödtliche Minimaldosis ganz *reactionslos* vertrug), hervorragende Heilerfolge auch bei solchen Mäusen bekommen, welche schon längere Zeit vor der Blutbehandlung mit Tetanuscultur in für andere Mäuse tödtlicher Dosis inficirt waren.

Während nun unsere übrigen wichtigsten Resultate, insbesondere die giftzerstörende und immunisirende Wirkung des Blutes tetanusimmunisirter Kaninehen auch von späteren Untersuchern (Cattani und Tizzoni, Vaillard) bestätigt sind, ist die Heilung tetanuskranker Mäuse denselben nicht gelungen.

Ich vermute, dass die Ursache dafür in der geringeren Immunität der Thiere, welchen das Blut entnommen wurde, gelegen ist.

Es dürfte daher sich empfehlen bei diesen therapeutischen Versuchen quantitativ, und indem man das Körpergewicht der zu behandelnden Thiere in Rechnung setzt, die Dosirung des Blutes vorzunehmen, wenn man positive Resultate erzielen will.

Nach meinen neueren Erfahrungen bei der Diphtherie habe ich Grund zu der Annahme, dass die mit dem Blute immunisirter Thiere auf nicht immune übertragenen Heilpotenzen sich nicht reproduiren, sondern mit der Zeit sogar geringer werden. Wenn das der Fall ist, so kann von einem immunisirten Thiere mit einer Immunität = 40 auf ein gleich grosses Thier selbstverständlich nur ein Bruchtheil der Immunität übertragen werden; wenn wir von einem Kaninehen mit 1,000 gr. Körpergewicht 5 cem. Blut einem anderen in die Bauchhöhle einspritzen, so wird im günstigsten Fall in diesen 5 cem.—also etwa dem 16ten Theil der Gesamtblutmenge des Thieres— $2\frac{1}{2}$ Immunität auf ein Kaninchen von 1,000 gr. übertragen werden; auf eine 20 gr. schwere Maus dagegen wird bei gleicher Berechnung mit 0.1 cem. Blut schon eine Immunität von $2\frac{1}{2}$ kommen.

Es sind ja das nie genaue Berechnungen, immerhin wird jeder, der in diesem complicirten Gebiet arbeitet, die Vortheile schätzen lernen, welche auch solche ungefähren Berechnungen darbieten.

Im Laufe der letzten Monate konnte ich nun in Gemeinschaft mit Herrn Stabsarzt *Dr. Wernicke* mit aller Bestimmtheit nachweisen, dass nicht bloss mit der Widerstandsfähigkeit diphtherie-immunisirter Meerschweinchen gegen die lebenden Diphtheriebacillen auch ihre Widerstandsfähigkeit gegen das specifische Diphtheriegift wächst, sondern dass auch das extravasculäre Blut von Meerschweinchen mit hoher Immunität diphtheriegiftzerstörende Fähigkeit besitzt, und dass man durch intraabdominelle Einspritzung des Blutes immunisirter Thiere andere Meerschweinchen immun machen, und wenn sie mit Diphtherie inficirt sind, heilen kann.

Zum Beweise dafür führe ich folgende Beispiele an:—

Ein in October 1890 immunisirtes Meerschweinchen wurde im November und Anfang December auf Immunität geprüft. Beide Male überstand es solche Infectionen, an welchen Controlthiere nach 2–3 Tagen zu Grunde gingen. Es zeigte indessen Infiltration an der Infectionsstelle und Necrotisirung; auch war das Thier vorübergehend allgemein krank.

Am 11. December wurde diesem Thiere Blut aus der linken Carotis (8 ccm.) entnommen. Das Blutserum, welches daraus gewonnen wurde, hatte eine für Meerschweinchen tödtliche Giftdosis schwächer gemacht. Während nämlich 1 ccm. Giftlösung für sich allein Meerschweinchen in 2 Tagen tödtete, starb ein Meerschweinchen, welchem 1 ccm. Giftlösung plus 4 ccm. Serum in die Bauchhöhle eingespritzt wurde, erst nach 8 Tagen.

Der bisher erreichte Grad der Immunität genügte aber noch nicht, um die antitoxische Wirkung im extravasculären Blut mit Sicherheit zu beweisen.

Dies partiell immunisirte Thier erhielt Ende December noch eine Diphtheriegiftosis, welche für unbehandelte Meerschweinchen krankmachend, aber nicht tödtlich wirkte, und wurde dann 3 Monate sich selber überlassen.

Am 1. April 1891 vertrug es eine Diphtheriegiftosis reactionslos, an welcher 11 andere Meerschweinchen innerhalb weniger Tage starben.

Im Mai wurde es dann zweimal mit der dreifachen Dosis einer Diphtheriecultur geimpft, an welcher Controlthiere in 4–5 Tagen starben. Auch diese Infectionen wurden reactionslos vertragen, und das Thier hatte somit eine Immunität von *mindestens* 6.

Am 30ten Mai wurde eine Blutentziehung aus der rechten Carotis gemacht (8 ccm.); 4 ccm. daraus gewonnenes Serum wurden mit der doppelten Menge einer für Meerschweinchen in 4–5 Tagen sicher tödtlichen Giftdosis vermischt und einem unbehandelten Meerschweinchen eingespritzt. Dasselbe blieb gesund und erwies sich 5 Tage später gegen eine Diphtherieinfection, an welcher das Controlthier nach 3 Tagen starb, soweit immun, dass es dieselbe überstand, aber es zeigte locale Reaction in nicht unerheblichem Grade (Infiltration mit nachfolgender Necrose) und an einer bald darauf applicirten grösseren Giftdosis starb es. Eine vorher entnommene Blutprobe aus der Carotis liess keine nennenswerthe antitoxische Wirkung erkennen.

Jenes in hohem Grade immune Thier hat noch mehrere hohe Giftdosen im Juni er. reactionslos vertragen und besitzt jetzt gegen Diphtheriegift eine Immunität von *mindestens* 12.

Ein anderes Meerschweinchen, welches im Januar er. immunisirt wurde, hat im Laufe der nächsten Monate bis zum Mai derartige Immunität erlangt, dass es doppelt so starke Infectionen und Giftdosen, die für Controlthiere in 4-5 Tagen tödtlich wirken, *reactionslos* verträgt.

Diesem Thiere wurden im Juli aus der linken Carotis 6 ccm. Blut entzogen.

Von diesem Blut erhielten zwei andere Meerschweinchen je 3 ccm. in die Bauchhöhle eingespritzt; das eine derselben war kurz vorher mit Diphtherieecultur in soleher Stärke geimpft worden, dass 2 Controlthiere daran nach 3 Tagen starben. Das andere Thier wurde 3 Tage nach der Blutinjection inficirt. Beide bekamen locale Infiltration und sind auch vorübergehend krank geworden, blieben jedoch am Leben.

Ich glaube durch diese Versuchsergebnisse auch für die Diphtherie bewiesen zu haben, dass man im Stande ist, die durch die Lebensthätigkeit ihrer Krankheitserreger erzeugten specifischen Stoffwechselprodukte durch ein Mittel im lebenden Körper unsehädlich zu machen und welches von der Blutbahn aus auch solehe diphtherische Heerde zur Heilung bringt, die von seiner Applicationsstelle weit entfernt liegen.

Neben der Heilwirkung kommt auch eine Immunitätverleihende diesem Mittel zu, und dem Eintritt der Immunität geht hier nicht, wie bei anderen immunisirenden Mitteln, eine Periode geringerer Diphtheriewiderständigkeit voraus; vielmehr lässt sich sofort nach der Blutinjection die Immunität constatiren.

Nehmen wir hinzu, dass schädliche Nebenwirkungen durch das Mittel nicht hervorgerufen werden, so lässt sich wohl behaupten, dass wir in demselben alle Haupteigenschaften eines Specifieum's vereinigt finden.

Die weiteren Aufgaben werden jetzt sein, dieses Diphtherieheilmittel in genügender Wirksamkeit und Menge zu bekommen, um es auch an grösseren diphtherieinficirten Individuen, als Meerschweinchen, anwenden zu können, es dann haltbarer zu machen, als das beim flüssigen Blut der Fall ist, und schliesslich die wirksamen Bestandtheile in concentrirter Form zu bringen.*

Ich darf hinzufügen, dass ich Aussicht habe, auch diese Ziele in absehbarer Zeit zu erreichen.

* Nachdem auf diese Weise am Meerschweinchen die Möglichkeit einer solchen Immunisirung der Thiere gegen Diphtherie erwiesen war, darf mit dem Blute derselben andere wieder immunisirt, und nach vorausgegangener Infection geheilt werden können, haben Dr. Wernicke und ich auch Kaninchen diphtherieimmun gemacht, und wir haben auch das Blut der diphtherieimmun gewordenen Kaninchen mit Erfolg zur Immunisirung von Meerschweinchen und zur Heilung angewendet. Die genaue Beschreibung unserer Resultate wird demnächst in einer Specialarbeit erfolgen.

Ich möchte noch einige Worte darüber sagen, wie wir uns das Zustandekommen der Diphtherieheilung durch das Blut immunisirter Thiere zu denken haben.

Dass die Heilpotenzen des therapeutisch wirksamen Blutes nicht an die lebenden Körperelemente gebunden, oder wenigstens nicht auf dieselben beschränkt sind, habe ich experimentell dadurch bewiesen, dass sie auch im extravasculären zellfreien Blutserum immunisirter Thiere vorhanden sind.

Ich habe ferner gezeigt, dass die Heilwirkung und immunisirende Wirkung darauf zurückzuführen ist, dass dem extravasculären Blute und Blutserum immunisirter Thiere die Fähigkeit inne wohnt, das specifische Diphtheriegift unschädlich zu machen, nicht aber die Diphtheriebacillen abzutöden.

Die desinficirende Blutwirkung bei diphtherieinfectirten Thieren ist hier also in der Zerstörung der von den Diphtheriebacillen producirten krankmachend wirkenden Stoffe zu suchen.

Ich glaube, dass diese Erklärung uns vorläufig genügen kann; man kann ja selbstverständlich noch immer weiter fragen, z. B. wie der lebende Organismus es anfängt, solche Heilsubstanzen zu produciren, welcher Art dieselben sind und Aehnliches; darauf aber vermag ich eine präcise Antwort nicht zu geben, und Vermuthungen, die vielleicht in Kurzem schon rectificirt werden müssen, will ich nicht aussprechen.

Dagegen möchte ich zum Schluss noch etwas berühren, was nur für die Immunitätsfrage von hervorragender Bedeutung zu sein scheint.

Wir sehen bei der Diphtherie und beim Tetanus einen weitgehenden Parallelismus in der Widerstandsfähigkeit der immunisirten Thiere gegen die infectiöse Wirkung der Diphtherie und Tetanus-Bacillen und gegen die toxische Wirkung des Diphtherie- und Tetanus-Giftes; bei beiden Krankheiten hätte man noch den bisherigen Lehrmeinungen ausgezeichnete Beweise für das Vorkommen des Phänomens der Giftgewöhnung annehmen sollen, worunter bekanntlich eine derartige Veränderung der Centralorgane oder lebenswichtiger Zelleneomplexe verstanden wird, dass dieselben auf ursprünglich deletäre Noxen oder Irritanten nicht mehr reagiren.

Bei einer solchen Auffassung hätte natürlich an eine Uebertragung von Heilpotenzen eines immunisirten Thieres auf ein nicht immunes nicht gedacht werden können.

Ganz anders aber wurde die Sachlage, als ich die Ursache dessen, was auf den ersten Blick als "Giftgewöhnung" impoirte, in einer giftzerstörenden Wirkung des zellfreien Blutes erkannte; jetzt lag der Gedanke nahe, zum Zweck der Heilung und Immunisirung das Blut des immunisirten Thieres dem zu heilenden einzuverleiben, und Sie haben gesehen, dass dieser Gedanke sich fruchtbringend erwiesen hat.

Nach meinen Erfahrungen habe ich ein Recht zu der Annahme, dass auch für viele andere Fälle von sogenannter Giftgewöhnung die celluläre Theorie der humoralen Platz machen wird.

Auch die *bacterienvernichtenden* Eigenschaften im lebenden Organismus, welche ursprünglich cellulären Kräften zugeschrieben wurden, werden von einem grossen Theile der Forscher auf diesem Gebiet gegenwärtig ebenso erklärt, wie ich sie für den Rattenmilzbrand vor nunmehr 3 Jahren postulierte, nämlich durch eine Eigenschaft des zellfreien Blutes.

Ganz besonders beweisend und lehrreich ist aber ein neues Beispiel von immunitätverleihender Wirkung der Blutflüssigkeit, dessen Kenntniss ich Herrn Professor Ehrlich verdanke.

Derselbe hat bei seinen Untersuchungen über giftige Pflanzeneiweisse, namentlich über das *Ricin*, gefunden, dass Mäuse und Kaninchen in kurzer Zeit so sehr gegen dieselben immunisirt werden können, dass sie selbst das 1,000fache der ursprünglich tödtlichen Dosis vertragen.

Auch diese Immunität beruht auf der Eigenschaft der Blutflüssigkeit der immunisirten Thiere, jene Pflanzengifte unschädlich zu machen; und es ist Herrn Professor Ehrlich gelungen, nicht bloss die antitoxische Wirkung im extravasculären Blut nachzuweisen, sondern, genau so wie beim Tetanus und bei der Diphtherie, auch frische Thiere durch Injection des Blutes der immunisirten zu heilen und zu immunisiren.

Ich brauche wohl nichts hinzuzufügen, um die Tragweite dieses von mir gefundenen Erklärungsprincips der erworbenen Giftwiderständigkeit vor Augen zu führen.

Um dasselbe zu finden, war es nothwendig, dass ich mich von den alten landläufigen Anschauungen losmachte, welche noch immer räthselhafte und unerklärliche Lebensprincipien auch da annehmen, wo wir im Stande sind, uns chemisch und physikalisch wirksame Kräfte dienstbar zu machen.

Wie früher die Lebenskraft, so spielen jetzt die geheimnissvollen Kräfte der lebenden Zelle in den Immunitätstheorien eine unsere Heilbestrebungen lähmende Rolle.

Es ist ja gar kein Zweifel darüber, dass das Verhalten der lebenden Körperelemente auch hier im letzten Grunde das Entscheidende ist; aber wenn es sich um die Frage handelt, was wir zu Heilzwecken mit den lebenden Zellen anfangen können, ob wir im Stande sind, sie willkürlich so zu beeinflussen, dass dadurch ein kranker Mensch gesund wird, dann wird die Antwort sehr zweifelhaft lauten müssen; wo man früher beispielsweise mit dem Quecksilber und Jod, mit dem Chinin, dem Arsen u. s. w. solches zu leisten geglaubt hat, da ist es jetzt wahrscheinlicher, dass diese specifischen Mittel nicht so sehr auf lebende Zellen als auf Krankheitserreger und Krankheitsstoffe einwirken; selbst in den Fällen, in welchen neuerdings durch Nahrungsmittel und Ernährungsmethoden ein günstiger Einfluss bei Infectionskrankheiten beobachtet ist, steht der Beweis noch aus, dass diese Wirkung durch eine Erhöhung der Widerstandsfähigkeit irgend welcher Zellencomplexe zu Stande kommt.

Bis jetzt wissen wir nur, dass auch die bestgemeinten direkten Angriffe auf lebende Organe, um sie zu modificirter Thätigkeit zu animiren oder zu irritiren, eher Aussicht haben sie krank zu machen, als ihnen eine höhere Gesundheit und Widerstandsfähigkeit zu verleihen.

Vielleicht kommen wir auch in der *allgemeinen* Therapie der Infectionskrankheiten noch dazu, den Grundsatz für massgebend zu erklären, welchen Herr Lister für die *lokale* Behandlung der Wundinfectionen mit so grossem Erfolge durchgeführt hat: “*Die heterogenen Schädlichkeiten und Krankheitsursachen fernzuhalten oder unschädlich zu machen, die lebende Zelle und das lebende Gewebe aber in Ruhe zu lassen.*”

DISCUSSION.

Prof. Roux dit:—Le mémoire très intéressant de M. Behring, dont vous venez d'entendre la lecture, se termine par des conclusions sur lesquelles je voudrais faire quelques réflexions au nom de M. Metchnikoff et au mieu.

M. Behring pense que les propriétés bactéricides de l'organisme vivant qui ont été autrefois attribués à des forces cellulaires sont actuellement expliquées par beaucoup d'observateurs, au moyen de la propriété baetéricide du sang dépourvu de cellules, comme il l'a fait déjà depuis 3 ans pour le charbon des rats.

Nous nous sommes déjà expliqués sur les relations du pouvoir bactéricide du sang des rats et de l'immunité, mais nous devons y revenir après cette communication de M. Behring. Je rappellerai que les spores de charbon ne germent le plus souvent pas dans le sérum tandis que les spores croissent toujours sous la peau des rats, elles donnent des bacilles et produisent un œdème. Du sang retiré de la jugulaire d'un rat, mêlé à des spores et injecté à une souris, ne lui donne pas le charbon ou lui donne un charbon de longue durée, tandis que le rat fournisseur du sérum thérapeutique succombe au charbon quand on le lui inocule. Donc le pouvoir bactéricide si puissant *in vitro* ne s'exerce plus dans l'animal vivant.

Si l'on étudie ce qui se passe après l'injection sous la peau d'une souris, du sérum de rat additionné de spores, on voit que déjà après trois heures il y a une émigration leucocytaire abondante et que beaucoup de spores sont dans l'intérieur des cellules: on trouve des leucocytes qui contiennent jusqu'à 10 spores et plus. Il y a une phagocytose énergique au point d'inoculation. Chez une autre souris qui n'a reçu que les spores celles-ci ont germé après quelques heures, et il n'y a pas d'action phagocytaire. Le sérum du rat agit d'abord en empêchant la germination des spores et ensuite en attirant les leucocytes. Nous avons, en effet, M. Metchnikoff et moi, constaté que ce sérum a un pouvoir chimiotactique positif pour les leucocytes de la souris. Les spores englobées ne germent pas dans le protoplasma, mais si quelque cellule trop remplie se rompt et laisse échapper son contenu, le charbon se développe, c'est pourquoi les souris inoculées ainsi périssent presque toutes après un temps plus ou moins long, leur sang et leur rate sont remplis de bactéries.

M. Behring pense qu'à présent les forces mystérieuses de la cellule vivante jouent dans les théories de l'immunité un rôle analogue à celui qu'avait autrefois la force vitale.

Messieurs, c'est une habitude d'accuser la théorie phagocytaire de mysticisme, mais en dernière analyse elle ne fait intervenir que des actions chimiques. Est-ce que la chimotaxie ne s'exerce pas au moyen

de substances chimiques ? Est-ce que la digestion intra-cellulaire des microbes dans le protoplasma, n'est pas une action chimique ? Il s'agit ici d'une chimie délicate à étudier comme toute la chimie des êtres vivants, il ne faut pas croire qu'on l'éclaircira, en se bornant à étudier, *in vitro*, les humeurs plus ou moins modifiées de l'organisme.

La théorie des phagocytes, dit M. Behring, empêche nos efforts thérapeutiques.

Messieurs, il faut avouer que les découvertes thérapeutiques ont souvent précédé en médecine les théories exactes. On n'a pas attendu que M. Laveran ait décrit l'hématozoaire du paludisme pour administrer la quinine dans la fièvre palustre, et il ne faut pas accuser la théorie phagocytaire de notre ignorance à guérir les maladies infectieuses. Nous pensons au contraire que l'étude des substances capables d'exciter ou de ralentir l'action des leucocytes conduira un jour à une thérapeutique originale. Si l'on parvient à isoler des cellules ces substances qu'elles élaborent pour détruire les microbes, pensez-vous, Messieurs, que l'on n'en tirera pas partie ?

Quand à la découverte de MM. Behring et Kitasato sur l'antitoxine du tétanos, je ne puis que répéter qu'elle est très importante, qu'on ne peut trop l'admirer, mais je dois répéter aussi qu'elle ne fournit pas une base suffisante pour appuyer une théorie de l'immunité. Cette substance antitoxique n'existe pas chez la poule qui est insensible à la toxine tétanique, elle n'existe pas chez le lapin qui a été immunisé par l'injection sous la peau de la queue, de spores tétaniques dépourvues de toxine et additionnées d'acide lactique. La substance antitoxique n'apparaît dans le sang, qu'après l'introduction de toxine dans le corps de l'animal. Elle y est d'autant plus abondante que l'on a injecté plus de toxine. Il semble donc que cette substance dérive de la toxine modifiée dans l'organisme. Cette modification exige un certain temps. M. Vaillard, à qui appartiennent les expériences que je rapporte sur le tétanos, a trouvé que le pouvoir antitoxique n'apparaissait dans le sang d'une poule que 14 jours après l'injection de toxine tétanique. Il ne semble pas impossible que la réaction qui se passe dans le corps puisse être imitée au dehors de l'organisme, et que l'on arrive à préparer, en partant de la toxine l'antitoxine tétanique.

Ainsi, l'existence de cette substance antitoxique ne nous rend même pas complètement compte de l'immunité pour le tétanos. D'après M. Behring, les faits observés dans le tétanos ne se reproduisent plus avec la même netteté avec la diphtérie. Cependant, la diphtérie et le tétanos sont deux maladies toxiques, si voisines que l'étude du tétanos est calquée sur celle de la diphtérie. Comment alors étendre la théorie de l'antitoxine à toutes les maladies infectieuses dont le plupart sont si différentes du tétanos et de la diphtérie ?

M. Behring insiste sur le parallélisme qui existe entre l'infection et l'intoxication dans la diphtérie et le tétanos. Les propriétés antitoxinocides sont donc en même temps anti-infectieuses. Nous avons vu que dans le tétanos il n'en est pas toujours ainsi, mais pour d'autres maladies cela est tout le contraire. Ainsi le singe réagit très peu à la tuberculine, et il prend très bien la tuberculose. Le cobaye peu sensible à l'action de la tuberculine est rendu très facilement tuberculeux. L'homme qui est le plus sensible à la maladie ne peut supporter que de très faibles doses de tuberculine. On pourrait multiplier ces exemples.

Je voudrais, Messieurs, à propos du traitement des maladies déjà déclarées vous rapporter quelques essais de M. Vaillard sur le traitement

du tétanos au début. Lorsqu'on mélange la toxine tétanique à une solution de trichlorure d'iode ou avec une solution iodée la toxine est modifiée au point qu'injectée à un animal sensible elle ne le rend pas malade et lui donne l'immunité. M. Vaillard a essayé de réaliser la même action chez le lapin qui a le tétanos en injectant dans ses veines une solution iodée. L'iode est très irritant pour la paroi des vaisseaux, et comme on est obligé de répéter des injections on a cherché à le rendre moins caustique en le combinant à l'amidon soluble ou à la dextrine; on peut injecter ainsi dans le sang des doses très notables d'iode. Le lapin ainsi traité prend un tétanos chronique et guérit souvent.

En terminant, Messieurs, je tiens à déclarer que M. Metchnikoff et moi nous sommes persuadés que les faits apportés par M. Behring, Buchner, Hankin, etc., ont un grand avenir pour la thérapeutique. Ce que nous soutenons, c'est que jusqu'ici ni la théorie bactéricide des humeurs, ni la découverte des antitoxines ne peuvent expliquer l'immunité qui est la résistance au virus vivant.



Ueber Desinfectionsmittel und die Methoden ihre Wirksamkeit zu prüfen.

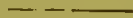
VON

Prof. Dr. MAX GRUBER, Wien.



Es ist eines der ruhmreichsten Kapitel der präventiven Medizin, mit dem wir uns heute beschäftigen. In diesem Kapitel sind mit unauslöschlicher Schrift verzeichnet der Name von Pasteur und der Name des Mannes, den in unserer Mitte zu haben wir so glücklich sind, der Name Sir Joseph Lister's eines der grössten Wohlthäter der Menschheit.

Es ist nur ein sehr bescheidener Beitrag zur Lehre von der Desinfection, den ich heute zu liefern im Stande bin.



In den Jahren 1889 und 1890 wurden z. Th. von Herrn Generalstabsarzt Dr. Neudörfer, z. Th. von Herrn Dr. Massatzugu Yamané aus Tokio im hygienischen Institute der Universität Wien zahlreiche, systematische Versuche über Desinfection angestellt, deren wichtigste Ergebnisse hier kurz mitgetheilt werden sollen.

Von vornherein war ein Hauptziel der Untersuchungen, Aufschluss darüber zu bekommen, in wieferne die bis dahin gebräuchlichen Prüfungsmethoden für ehemische Desinficientien ihrem Zwecke entsprechen und welche Vorsichten angewendet werden müssen, wenn man zu einem zuverlässigen Urtheil über Desinfectionswirkungen gelangen will.

Viele von unseren Erfahrungen sind seitdem auch von Anderen gemacht und veröffentlicht worden, und es soll sogleich besonders

hervorgehoben werden, dass wir in vielen wichtigen Punkten mit J. Geppert's ausgezeichneten Mittheilungen übereinstimmen.

Auch wir sind dazu geführt worden, dass das herrschende Urtheil über viele Desinfectionsmittel unzutreffend ist, dass bei der bisherigen Methodik gewisse, für den Erfolg wichtige Begleitumstände zu wenig beachtet, ja bedeutsamste Fehlerquellen eingeführt worden sind.

Wir wollen die wichtigsten Momente hervorheben, die bei den meisten bisherigen Prüfungen nicht genügend beachtet worden sind.

(1.) Besonders behutsam muss man in der Auswahl der Mikroben sein, an denen man die Desinfectionswirkung erproben will. Man weiss seit Langem dass verschiedene Mikrobenarten ungleiche Widerstandsfähigkeit besitzen, dass daher vergleichbare Resultate nur an ein und derselben Mikrobenart gewonnen werden können. Man ist seit einigen Jahren darauf aufmerksam geworden, dass man auch bei Verwendung derselben Art noch Täuschungen unterliegen kann. Man hat sich nämlich überzeugt, dass das so beliebte Testobject, die Milzbrandsporen, ungemein grosse Verschiedenheiten der Resistenz zeigt.

Wir glauben sogar, dass man sich in dieser Beziehung übertriebene Vorstellungen macht. Wir haben wenigstens niemals Milzbrandsporen antreffen können, welche nicht mindestens 25 Tage lang den Aufenthalt in 5 $\frac{0}{100}$ iger Carbolsäure überdauert hätten, und wir können den Verdacht nicht unterdrücken, dass dort, wo angeblich schon nach 2-3tägiger Einwirkung des genannten Desinfectionsmittels die Abtödtung erfolgt ist, eine Verwechselung mit "Pseudosporen" stattgefunden habe.

Dagegen haben wir uns überzeugt, dass auch die vegetativen Formen der Bacterien—was bisher nicht genug berücksichtigt wurde—ausserordentlich grosse Resistenzunterschiede aufweisen. So haben wir z. B. bei Parallelversuchen gesehen, dass die eine Cultur von *M. pyogenes aureus* durch 2·5 $\frac{0}{100}$ Creolin Pearson in 5 Minuten getödtet wurde, eine andere dagegen noch nicht binnen einer Stunde. Die eine Aureus-Cultur erlag 5 $\frac{0}{100}$ Pyoktanin in 10 Sekunden, eine andere erst in 10 Minuten! u. s.w. Es ist daher unbedingt notwendig, bei jeder Prüfung eines neuen Desinfectionsmittels die Resistenz der verwendeten Cultur gegenüber einem bekannten Mittel festzustellen. Wir haben für diesen Controlzweck gegenüber *M. pyogenes aureus* 2,5 $\frac{0}{100}$ ige frisch bereitete Emulsion von Creolin Pearson (stets dasselbe Fläschchen) sehr verwendbar gefunden.

(2.) Beträchtliche Unsicherheit der Ergebnisse wird durch ungleiche Vertheilung der Keime im Desinfectionsmittel bedingt. Jene Keime, welche in Flöckchen vereinigt sind, in Bröckelchen des Nährbodens sitzen u. s.w. sind dadurch gegen das Desinfectionsmittel bis zu einem gewissen Grade geschützt. Bei Verwendung von Aufschwemmungen der Keime ist daher unbedingt vor Zusatz des Desinfectionsmittels zu filtriren.

(3.) Darauf, dass die Temperatur, bei welcher die Einwirkung des Desinfectionsmittels erfolgt, von grosser Bedeutung ist, ist inzwischen schon von anderen Seiten nachdrücklich aufmerksam gemacht worden; ebenso darauf, dass das Medium, in welchem sich die Keime befinden,

entscheidenden Einfluss auf den Desinfectionserfolg üben kann, dass insbesondere Eiweissgehalt des Mediums in dieser Beziehung wichtig ist.

(4.) Argen Täuschungen ist man dadurch unterlegen, dass man die Beobachtung der mit den Desinficientien behandelten Mikroben in Bezug auf ihre Wachstumsfähigkeit meist viel zu früh abbrach. Wir haben uns davon überzeugt, dass man die Beobachtung 8–10 Tage lang fortsetzen muss, wenn man ganz sicher gehen will, und zwar auch dann wenn man die Keime unter die günstigsten Lebensbedingungen versetzt hat.

Der gerügte Fehler ist z. B. wohl die Hauptursache gewesen, dass man die Desinfectionswirkung der Phenol- und der Kresol-Schwefelsäure-Gemische weit überschätzt hat. Wir haben gesehen, wie Milzbrandsporen, die 24 Stunden lang in 1‰ Sublimat gelegen hatten, in Bouillon bei 37° gehalten erst am 7. Tage auskeimten!

Eine solche Verzögerung beweist—nebenbei bemerkt—durchaus keine Abschwächung der betreffenden Keime. Sie ist in vielen Fällen lediglich darauf zu beziehen, dass das Desinfectionsmittel, das sich in der Hülle der Spore niedergeschlagen hat, vorerst sehr gebunden oder ausgelaugt werden muss. Die Milzbrandkultur z. B. die sich nach 7 Tagen erst zu entwickeln begonnen hatte, war vollvirulent und tödtete eine Maus binnen 24 Stunden, was wohl unmöglich gewesen wäre, wenn die Verzögerung des Wachstums durch Schädigung des Protoplasmas bedingt gewesen wäre.

(5.) Muss man trachten, für die mit dem Desinfectionsmittel behandelten Keime die günstigsten Wachstumsbedingungen herzustellen. Zahlreiche Untersuchungen sind unbrauchbar, weil die Keime zur Feststellung ihrer Entwicklungsfähigkeit in Nährgelatine verbracht und bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gehalten wurden. Feste Nährböden bieten der Diffusion grössere Hindernisse und sind schon aus diesem Grunde sämmtlich ungünstiger.

Insbesondere aber haben wir ermittelt, dass Keime, die eine Schädigung erfahren haben, oft unfähig sind, sich bei Zimmertemperatur zu vermehren, aber dazu bei Brutwärme ganz wohl befähigt sind. So habe ich schon vor Jahren bei Versuchen mit Hitzedesinfectionsapparaten gesehen, dass Milzbrandsporen, die durch mehrere Stunden trockener Hitze von 120° und darüber ausgesetzt gewesen waren, nicht mehr in Gelatine, wohl aber sofort in peptonisirter Fleischbrühe bei 37° keimten.

(6.) Von grösster Wichtigkeit ist es, dass man sich nicht durch die entwicklungshemmende Wirkung jener Mengen des Desinfectionsmittels täuschen lässt, welche mit den Keimen in die Nährböden übertragen werden. Man hat sich gegen diese Täuschung dadurch zu sichern gemeint, dass man zur Controle auf eine besondere Probe des Nährbodens Keime, die noch nicht mit dem Desinfectionsmittel behandelt worden waren und eine ebenso grosse Menge des Mittels, als aus dem Desinfectionsgemische mit den Keimen übertragen werden musste, verbrachte. Erwies es sich, dass diese Aussaat durch das Desinfectionsmittel in ihrer Entwicklung nicht gehemmt wurde, so hielt man sich vollberechtigt, das Ausbleiben der Vegetation in den

eigentlichen Versuchsproben auf Abtödtung der Keime beziehen zu dürfen. Indess genügt diese Controle nicht, da gegenüber Keimen, die einem Desinfectionsmittel in hoher Concentration durch einige Zeit ausgesetzt gewesen sind, viel geringere Mengen dieses Mittels zur Entwicklungshemmung ausreichen, als gegenüber frischen Keimen derselben Art. Auch wir hatten wiederholt Gelegenheit, uns von dieser schon von Anderen gefundenen Sachlage zu überzeugen. Es sei nur ein einziges Beispiel angeführt: Als aus einer Milzbrandsporen-Aufschwemmung, welche $1^\circ/\infty$ Sublimat enthielt, nach 1 Minute langer Einwirkung ein Tröpfchen in Bouillon übertragen wurde, entwickelte sich hier binnen 24 Stunden eine allerdings noch spärliche Vegetation; nach 3 Minuten langer Einwirkung kam es unter den gleichen Bedingungen erst nach 48 Stunden zu eben sichtbarem Wachsthum; nach 5 Minuten langer Einwirkung dauerte es 3 Tage bis Wachsthum sichtbar wurde; nach 10 Minuten 4 Tage; alle Bouillonproben, die mit Tröpfchen des Gemisches nach 15 Minuten langer und noch längerer Einwirkung beschickt worden waren, blieben dauernd frei von Vegetation, obwohl constatirt werden konnte, dass die Sporen keineswegs getödtet waren.

(7.) Als besonders unzuverlässig zeigte sich auch uns die Erprobung der Desinfectionsmittel an den so beliebten, mit Cultur imprägnirten Seidenfäden. Einerseits finden die Keime einen gewissen Schutz gegen das Desinfeziens durch die Kruste des mit eingetrockneten Nährbodens, durch die Erschwerung des Eindringens des Desinfeziens in die inneren Theile des Fadens, vielfach durch die Bindung des Desinfectionsmittels durch die Substanz des Fadens selbst, so dass aus diesen Gründen das Desinfeziens unwirksamer erscheinen kann, als es wirklich ist; andererseits ist gerade bei dieser Versuchsanordnung die Mitübertragung beträchtlicher Mengen des Desinfeziens und damit täuschende Entwicklungshemmung schwer zu vermeiden. Bei der gewöhnlich üblichen Ausführung ist die Täuschung unvermeidlich, sobald es sich um stärker entwicklungshemmende Mittel handelt. Ganz schlimm ist es, wenn etwa gar bei dem Versuche, das Desinfectionsmittel zu entfernen, Niedersehläge auf dem Faden hervorgerufen werden. Dieses ist z. B. der Fall bei allen Creolinen. Sobald man ihre Emulsionen weiter verdünnt, fällt ein Theil der durch die Seife in Lösung erhaltenen Kresolen heraus und schlägt sich mit den suspendirten Kohlenwasserstoffen auf den Faden nieder.

Auf diese Umstände ist es zurückzuführen, dass man ganz andere und zwar in der Regel ungleich schlechtere Desinfectionserfolge erhält, wenn man die Mittel auf Keimsuspensionen einwirken lässt. So schienen die Milzbrandsporen an einem Seidenfaden abgetödtet, nachdem sie 24 Stunden lang in einer $10^\circ/\infty$ igen Lösung eines bestimmten Gemisches von Kresol und Schwefelsäure zu gleichen Theilen gelegen hatten. Eine Sporensuspension hingegen, welche ebenfalls $10^\circ/\infty$ der Mischung enthielt, lieferte bei Tröpfchenübertragung in Bouillon noch nach 8 Tagen Culturen. Ein Milzbrandsporenfaden, der 24 Stunden in $10^\circ/\infty$ Pearson-Creolin gelegen hatte und dann mit Wasser sorgfältig ausgewaschen worden war, lieferte in Bouillon übertragen keine Cultur

mehr und ebenso verhielten sich selbstverständlich Fäden, welche nach 2, 3, 4 Tagen dem Creolin entnommen wurden. Hingegen entwickelte sich Milzbrandvegetation aus einem Faden, der nach 4tägiger Behandlung mit 10°/o Creolin wiederholt mit Alkohol gewaschen worden war u. s. w.

Auch dann, wenn man die Fäden, statt sie in Nährmedien zu übertragen, einem Thiere beibringt, werden die Ergebnisse nicht verlässlicher. Ist das Desinficiens nicht entfernt oder genügend verdünnt, so bleibt die Infection aus oder verläuft abortiv, auch wenn die Keime noch ihre volle Virulenz haben.

(8.) Auch dann, wenn man mit Suspensionen von Keimen arbeitet, darf man den Erfolg der Desinfection nicht dadurch erproben wollen, dass man unmittelbar Tröpfchen des Gemisches einem Thiere beibringt. Auch in diesem Falle ist es unbedingt notwendig, das Desinfectionsmittel vorher zu beseitigen oder wenigstens hoehgradig zu verdünnen. Die Infection bleibt bei Anwesenheit des Desinficiens aus oder verläuft chronisch oder führt nur zu örtlichen Veränderungen, entweder, weil die Keime direct geschädigt werden oder weil im thierischen Gewebe an der Infectionsstelle durch die ehemische Substanz entzündliche, schützende Reaaction hervorgerufen wird. Thatsache ist, dass die directe Infection oft erfolglos bleibt, während auf den ebenso infectirten todten Nährböden die Cultur angeht. Auch hier wollen wir nur ein Beispiel mittheilen: Eine Milzbrandsporensuspension wird mit soviel Kresol-Schwefelsäure (gleiche Gewichte) versetzt, dass die Mischung 10₀°/o davon enthält. Nach 3 Tagen erhält eine Maus ein Tröpfchen ins subcutane Gewebe an der Schwanzwurzel. Gleichzeitig werden in sogleich zu besprechender Weise Aussaaten in Bouillon gemacht. Die Maus bleibt gesund, in der Bouillon wachsen Milzbrandbacillen. Nach 5 Tagen wird die Maus mit der Bouillon-Cultur infectirt und erliegt binnen 36 Stunden dem Milzbrande!

Die soeben dargelegten Fehlerquellen vermeidet man bei Anwendung der Methode von J. Geppert, die ich als bekannt voraussetze. Sehr einfach und völlig zuverlässig—selbst bei einem so intensiv entwicklungshemmenden Stoffe wie Sublimat—ist die *Methode* welche wir angewendet haben.

Es wird eine möglichst dichte Aufschwemmung der Keime hergestellt, indem die Vegetation von Agar-, Kartoffel-, Serum-Culturen abgekratzt und in Wasser sorgfältig vertheilt wird. Hierauf wird durch ein dichtes, doppeltes Leinenfilter—event. wiederholt—filtrirt. Die Suspension muss so dicht sein, dass auch noch *in tausendfacher Verdünnung jedes Tröpfchen Hunderte und Tausende von Keimen enthält*. Die Aufschwemmung wird hierauf mit der Lösung des Desinfectionsmittels in solcher Menge versetzt, dass im Gemische die gewünschte Concentration hergestellt wird. Gewöhnlich ist es am zweckmässigsten der Lösung des Desinficiens die doppelte Concentration zu geben und gleiche Volumina der Lösung und der Aufschwemmung mit einander zu vermischen. Ebenso werden Controlproben mit einem bekannten Desinficiens angesetzt. Nach gemessenen Zeiten werden dem Gemische kleine Proben entnommen und in peptonisirte Fleischbrühl

übertragen (ea. 10^{nm3} in 10^{cm3}). Aus der ersten Bouillonprobe wird alsbald nach gründlichem Mischen eine 2. Bouillonprobe besät (2. Verdünnung). Zur Controle, dass auch in die 2. Verdünnung Keime in grosser Zahl übertragen worden sind, wird ein Theil der ursprünglichen Keimsuspension in demselben Verhältnisse mit sterilisirtem Wasser verdünnt, wie die Hauptprobe mit der Lösung des Desinficiens, und daraus dann, eine 1. und 2. Verdünnung in Bouillon oder in Agarplatten angelegt. Alle Proben werden dann bei Brutwärme gehalten und durch 10 Tage beobachtet.

Prüft man die Desinficientien auf ihre Leistungen in dieser Weise, so bewähren sich die Wenigsten. Insbesondere versagen fast Alle gegenüber den Milzbrandsporen.

Es zeigten sich völlig unwirksam gegenüber Milzbrandsporen:							Einwirkungsdauer.
5 %	Carbolsäure	-	-	-	-	-	40 Tage
	Kalkwasser	-	-	-	-	-	mehrere Wochen
10 %	Creolin Pearson	-	-	-	-	-	10 Tage
10 %	Creolinum viennense	-	-	-	-	-	10 Tage
10 %	Lysol	-	-	-	-	-	10 Tage
10 %	Kresol-Schmierseife (aa)	-	-	-	-	-	10 Tage
10 %	Kresol-Harzseife (aa)	-	-	-	-	-	10 Tage
10 %	Kresolin Brockmann	-	-	-	-	-	10 Tage
10 %	Kresol-Schwefelsäure (gleiche Gewichte)	-	-	-	-	-	8 Tage
5 %	Kresol-Schwefelsäure (gleiche Volumina)	-	-	-	-	-	4 Tage

Ebenso schlecht bewährten sich 1 % Pyoktanin, conc. Ammoniak, koehender Aether und viele Andere.

Andere anerkannte Desinfektionsmittel bedürften doch einer viel länger dauernden Einwirkung, um Erfolg zu haben, als bisher angenommen wurde. So tödtete 1%_∞ *Sublimat* Milzbrandsporen bei Zimmertemperatur nicht binnen 24 Stunden; 2.5%_∞ *Sublimat* tödtete erst binnen 2 Stunden; 5%_∞ *Sublimat* erst binnen 5–10 Minuten. 10%_∞ *Kresol-Schwefelsäure* (gleiche Volumina) tödtete sicher erst binnen 24 Stunden; 15%_∞ *Kalilauge* bei 16–24 Stunden langer Einwirkung. Am Energischsten wirkte, wie schon *Geppert* zuverlässig bewiesen hat, *Chlorkalk*, bez. *freies Chlor*; ferner *Sublimat-Salzsäure* und *Sublimat-Weinsäure*. aa 1%_∞ *Sublimat-Weinsäure* tödtete Milzbrandsporen binnen 10–15 Minuten, und ebenso verhielt sich aa 1%_∞ *Sublimat-Salzsäure*. aa 2.5%_∞ *Sublimat-Salzsäure* tödtete binnen 3–5 Minuten; aa 5%_∞ *Sublimat-Salzsäure* binnen 1–3 Minuten.

Uebersaus kräftig wirkt auf Milzbrandsporen auch eine gesättigte Lösung von *Kupferoxyd-Ammoniak*. Nach 3/4 bis 1 Stunde ist die Desinfection vollendet, während sowohl Ammoniak als gesättigte Kupfersulfat-Lösung unwirksam sind. Ich werde bei einer anderen Gelegenheit diese theoretisch wichtige Sache besprechen.

Die Wirkung der Desinficientien auf vegetative Bacterienformen prüften wir an Culturen von *Mieroe. pyogenes aureus*. Wir haben schon eingangs angegeben, wie grosse Unterschiede in der Widerstandsfähigkeit verschiedener Cuituren bestehen. Die mit voller Kraft Begabten

gehören aber sicher zu den resistantesten vegetativen Bacterienformen. Gegenüber diesen verfügt man bekanntlich über eine viel grössere Zahl kräftiger Abtödtungsmittel als gegenüber der Sporen. Aber auch hier haben wir gefunden, dass meist viel höhere Concentrationen und viel länger dauernde Einwirkung erforderlich ist als man bisher annahm.

Fast momentan tödtet 1‰ *Sublimat*, 1‰ *Kresol-Schwefelsäure*, 3‰ *Carbolsäure*. Auch 2‰ *Carbolsäure* tödtet vollkräftige Aureus-Cultur sicher binnen 1 Minute.

Dagegen ist die Abtödtung auch nach einer halben Stunde noch nicht vollzogen, wenn 1‰ *Carbolsäure* angewendet wird. Sehr schlecht haben sich die verschiedenen *Creoline* bewährt, die auch abgesehen von ihren unangenehmen sonstigen Eigenschaften als nicht preiswürdig bezeichnet werden müssen. *Creolin Pearson* (3 verschiedene Proben) tödtete in 10‰ *Emulsion* allerdings binnen 30 Sekunden. Die 5‰ *Emulsion* tödtete aber Aureus erst binnen 10 Minuten; die 2.5‰ ige war auch nach einer Stunde unwirksam geblieben. Fast genau ebenso verhielt es sich mit *Creolinum viennense*. Auch *Brockmanns Kresolin*, ein ganz ähnliches Präparat, zeigte ungenügende Wirksamkeit. Selbst die 10‰ ige *Emulsion* erforderte 3 Minuten zur Abtödtung; die 5‰ ige 30 Minuten, die 2.5‰ ige 2 Stunden u. s. w. Sehr viel weniger wirksam, als angegeben worden ist, erwies sich auch das *Stilling'sche Pyoktanin*. In der Verdünnung 1 : 10,000 (1‰) tödtete es binnen 1 Stunde noch nicht; in 1‰ Lösung nicht binnen 30 Minuten, selbst in der Concentration von 5‰ erst nach 15 Minuten, und in der von 1‰ erst binnen 3 Minuten. Als die Aureus-Cultur in Blutserum suspendirt wurde, erfolgte ihre Abtödtung durch 1‰ *Pyoktanin* sogar erst nach 30 Minuten langer Einwirkung!

Wenn sich auch die *Creoline* bei unseren Prüfungen nicht wirksam genug gezeigt hatten, so ging doch auch aus unseren Versuchen hervor, dass die höheren Phenole, welche in den *Creolinen* als wirksamer Bestandtheil vorhanden sind, bedeutend stärkere Desinfectionskraft besitzen müssen als die *Carbolsäure*. Dies leitete uns zur Herstellung von Präparaten, welche *Kresole* in höherer Concentration enthalten als die *Creoline*, welche stets sicher in gleicher Zusammensetzung erhalten werden können und welche frei von den nutzlosen und lästigen Kohlenwasserstoffen sind, welche die Undurchsichtigkeit der *Creolin-Emulsionen* bedingen. Nach mancherlei Versuchen, auf die hier nicht weiter eingegangen werden soll, kamen wir zur folgenden einfachen Präparation als der besten:—

Die gewöhnliche *Kali-Sehmierseife* der Apotheken wird unter Zusatz von etwas Wasser im Wasserbade geschmolzen. Hierauf wird das gleiche Gewicht *Kresol* (wie es zum Preise von 5 M. pro Kilogr. in nahezu gleicher Beschaffenheit, z. B. aus den Fabriken von Kahlbaum-Berlin, Trommsdorff-Erfurt, Schuchardt-Görlitz, bezogen werden kann) zugesetzt und Beides auf dem Wasserbade verrührt. In kurzer Zeit ist ein einheitliches Gemisch entstanden, das Präparat fertig. Je nach der Reinheit der Seife ist seine Farbe dunkelgelb bis rothbraun. Ein Unterschied in der Wirksamkeit ist dadurch nicht bedingt. Auch die anfänglich hell gefärbten Präparate dunkeln beim Stehen an der Luft

nach. Auch ein Jahr alte Präparate besitzen aber noch dieselbe Wirksamkeit wie die frischen.

Ein derartiges Präparat löst sich in beliebiger Concentration in destillirtem Wasser vollkommen klar. Gewöhnliches Wasser gibt je nach seinem Härtegrade zu Fällungen (von Kalkseife) Anlass. Da damit den Kresolen das Lösungsmittel entzogen und diese ebenfalls ausgeschieden werden, so lässt sich gewöhnliches Wasser, wenn es *höheren* Härtegrad besitzt, als Lösungsmittel nicht verwenden, was allerdings ein Nachtheil des Präparates ist. Die Desinfectionskraft dieses Präparates ist sehr gross. In 2°/iger Lösung bereits tödtet es die kräftigsten Aureus-Culturen binnen 10–30 Sekunden. Besonders wichtig ist auch, dass Eiweissgehalt der zu desinficirenden Flüssigkeiten keinen wesentlichen Einfluss auf den Erfolg hat. Eine in Serum aufgeschwemmte Aureus-Cultur wurde durch 2°/ Kresol-Schmierseife binnen 1 Minute getödtet. Selbst in 1°/iger Lösung tödtet das Präparat Aureus noch binnen 10 Minuten. Das in neuerer Zeit in den Handel gebrachte *Lysol* ist ein Präparat, das—nach meiner Ueberzeugung—in identischer, jedenfalls in ganz ähnlicher Weise, wie das unsere hergestellt wird und sich nur durch seinen Preis davon unterscheidet. In seiner Wirksamkeit stimmt es mit unserem Präparate fast vollständig überein. Unwirksam gegen Milzbrandsporen tödtet es in 2°/iger Lösung kräftigste Aureus-Cultur binnen 30 Sekunden bez. wenn diese in Serum aufgeschwemmt ist, in 1 bis 3 Minuten. In der Concentration von 1°/ tödtet es Aureus in Wasser aufgeschwemmt binnen 5 Minuten.

Sowohl unsere Kresol-Schmierseife als das *Lysol* sind Beispiele dafür, dass energische Abtödtungsmittel nicht zugleich auch energische entwicklungshemmende Mittel sein müssen, oder, was identisch ist, sie zeigen erstaunlich rasche Abnahme der schädlichen Wirkung auf Baeterien mit der Abnahme der Concentration. Während, wie oben angegeben wurde, Kresol-Schmierseife in 1°/iger Lösung Aureus binnen 5–10 Minuten tödtet, ist sie bereits in der Verdünnung von 1:400 nicht mehr im Stande, die Entwicklung des Aureus in eiweissfreien Medien vollständig zu verhindern; in höheren Verdünnungen als 1:1,000 bewirkt sie nicht einmal mehr Verzögerung des Wachstums. Befindet sich Aureus in eiweisshaltigen Flüssigkeiten (Blutserum), dann muss die Concentration sogar 1:200 erreichen, wenn dauernd und vollständig die Entwicklung von Aureus hintangehalten werden soll. Ebenso hemmt *Lysol* in eiweissfreien Flüssigkeiten die Entwicklung von Aureus erst in der Concentration 1:300, in eiweisshaltigen erst in der Concentration 1:200 vollständig.*

In der 2 und 3°/igen Carbolsäure, sowie in der Sublimatlösung von 1°/ unter Zusatz von Kochsalz oder Säuren besitzen die Chirurgen

* *Anmerkung.*—Einen Gegensatz bildet das *Pyoktanin*, welche die Entwicklung von Aureus noch in Verdünnungen 1:1–4 Millionen hindert, wenn die Flüssigkeiten eiweissfrei sind, und in der Verdünnung von 1:100,000 in Blutserum. Die Keimung von Milzbrandsporen verhindert das Pyoktanin in eiweissfreien Flüssigkeiten in der Verdünnung 1:2 Millionen, in Blutserum in der Verdünnung 1:300,000.

schon seit Langem ganz ausgezeichnete Desinfectionsmittel. Wenn man trotzdem nach immer neuen Antiseptics sucht, so geschieht es hauptsächlich der Giftigkeit der genannten Chemikalien halber, welche insbesondere ihre Verwendung in der geburtshilflichen Praxis durch die Hebammen sehr bedenklich macht. Ich glaube nun, dass die *Kresol-Schmierseife* eine Reihe von Vorzügen besitzt, welche dazu auffordern müssen, sie besonders in der genannten Richtung praktisch zu erproben. Diese Vorzüge sind, das Gemisch ist leicht und in stets gleicher Beschaffenheit in jeder Apotheke herstellbar; das Präparat ist billiger als Carbolsäure; selbst in ganz eoneentrirtem Zustande übt es keine Aetzwirkung auf die Haut aus, in 2 und selbst in 5% iger Lösung ätzt es die Schleimhäute nicht; es besitzt eine bei Weitem geringere Giftigkeit als Carbolsäure; es wirkt energischer desinfectirend als Carbolsäure, da die 2% ige Lösung ebenso rasch wirkt wie die 3% ige Carbolsäure; es wird in seiner Wirksamkeit vom Eiweissgehalte der Substrate nur unbedeutend beeinflusst; vermöge seines Gehaltes an Seife bewirkt es zugleich Reinigung beschmutzter und fetter Oberflächen, was von grossem Vortheile ist, da selbstverständlich nur dort Desinfection erzielt wird, wo Benetzung mit der Lösung des Desinfectiens eintritt, weshalb ja auch z. B. bei der Desinfection der Hände, wie sie gewöhnlich vorgenommen wird, die Waschung mit Seife eine so wichtige Rolle spielt.

Dass die Wirksamkeit des Präparates gegenüber Milzbrandsporen gleich Null ist, kann ebenso wenig, wie bei der Carbolsäure, gegen seine Verwendung entscheidend sein, da man es ja fast in allen Fällen nicht mit der Abtödtung von Sporen, sondern nur mit der von vegetativen Wuchsformen zu thun hat.



Ueber Kresole als Desinfectionsmittel.

VON

Prof. FERDINAND HUEPPE, Prag.



Wenn auch das Quecksilbersublimat sich seit Koeh's bahnbrechenden und grundlegenden Untersuchungen über Desinfection die erste Stelle unter den Desinfectionsmitteln errungen hat, so haben doch die grosse Giftigkeit dieses Körpers und eine Reihe praktischer Aufgaben es bewirkt, dass auch die Carbolsäure trotz ihrer von Koeh erwiesenen geringeren Leistungsfähigkeit sich ihren durch Lemaire und Lister erkämpften Platz behaupten konnte. Fortschritte in der Methodik der Prüfung auf desinfectirende Fähigkeiten, grössere Specialisirung in den Aufgaben der Desinfectionspraxis hatten sogar zur Folge, dass man neuerdings wieder vielfach von dem Sublimat abging und sich den Körpern der aromatischen Gruppe mehr zuwandte. Für die Körper dieser Gruppe besitzen wir nun in der Carbolsäure einen vorzüglichen

Maassstab für die Beurtheilung der antiparasitären Wirksamkeit und der Grenzen der relativen Giftigkeit, also auch für die Brauehbarkeit und Anwendungsmöglichkeit in der medicinischen Praxis.

Ausgehend von der praktischen Erfahrung, dass die experimentell so wenig bewährte rohe Carbolsäure praktisch sich neben der reinen Carbolsäure halten konnte, versuchte ich Wege zu finden, diesen scheinbaren Widerspruch zu lösen. Bereits 1886 lieferte ich den Nachweis, dass die Orthophenolsulfosäure stärker antibakteriell wirkt als das Phenol selbst, und dass sie weniger ätzt und weniger giftig ist als dieses. Ich ermittelte also zum ersten Male, dass man erfolgreich versuchen kann, Körper zu finden, welche nur *relativ* giftig sind, d. h. welche bei gleicher oder sogar höheren Desinfectionswirkung gegen Mikroparasiten für den Menschen (und eventuell für bestimmte Species unserer Haustiere) weniger schädlich sind. Damit war eine Brücke für die Möglichkeit gegeben, durch systematische wissenschaftliche experimentelle Versuche spezifische Desinfectionsmittel zu finden — spezifisch zunächst in dem allgemeinen Sinne, dass diese Mittel für die Species homo verträglich sind, und dann vielleicht spezifisch derart, dass sie bei grösster Wirksamkeit gegen bestimmte Parasiten für den Menschen von *fast* vollkommener Ungiftigkeit sind. *Alle* solche Mittel sind selbstverständlich *niemals absolut ungiftig*, wie die Creolin-fabrikanten für ihr Präparat unter Anführung ärztlicher Zeugnisse behaupten, sondern sie sind stets *nur* im obigen Sinne *relativ ungiftig*. Jede Desinfectionswirkung ist eine Giftwirkung auf Protoplasma, nur kann diese Wirkung eventuell als eine *spezifische* gegen das Protoplasma der Infectionszellen stärker sein, als gegen das thierische Zellprotoplasma, trotzdem im *Allgemeinen* das Protoplasma der Infectionszellen widerstandsfähiger erscheint als das letztere.

Nach Constatirung dieser Thatsache fand ich, dass man Orthophenolsulfosäure statt aus reiner Carbolsäure auch aus der rohen Carbolsäure herstellen konnte, dass also die bessere *Löslichmachung durch Sulfonirung* dieser in Wasser unlöslichen rohen Carbolsäure wohl ein Mittel sein dürfte, gute Desinfectionsmittel aus der Reihe der aromatischen Körper zu gewinnen, da sich in der rohen Carbolsäure noch Körper wie Kresole, Xylenole etc. befinden. Leider scheiterten meine damaligen Versuche, auf diesem Wege derartige Körper zu gewinnen, daran, dass ich zwei Fabriken dafür nicht interessiren konnte und dass andere Arbeiten schliesslich diese Versuche zurücktreten liessen. Da Laplace und Behring in ihren viel später erschienenen Arbeiten keinerlei Rücksicht auf meine Arbeit über Orthophenolsulfosäure nehmen, beide auch die vor ihnen erschienenen Arbeiten von Fürbringer über die Verwerthung der Säuren zum Löslichmachen des Sublimats nicht erwähnen, muss ich dies hier vorausschicken.

Nachdem also die Sulfonirung der Phenole sich in Form der Orthophenolsulfosäure so sehr bewährt hatte, und nachdem bald danach Fürbringer empfohlen hatte, das Sublimat durch Zusatz von Säuren löslicher zu machen resp. auch in hartem Wasser in Lösung zu halten, empfahl Laplace 1888 Mischungen von roher Carbolsäure mit Säuren und zwar speciell mit Schwefelsäure und ermittelte, dass hierbei die

Mischung mit roher Carbolsäure wirksamer war als die mit reiner Carbolsäure. Indem C. Fraenkel hieran und an meine frühere Untersuchung anknüpfte, ermittelte er 1889 einige sehr wichtige neue Thatsachen. Vor allem stellte er fest, dass es wirklich die Kresole sind, welche beim Aufschliessen und Löslichmachen der rohen Carbolsäure deren grosse, die reine Carbolsäure übertreffende Desinfectionskraft liefern.

Ich hatte schon ermittelt, dass die Orthophenolsulfosäure durch Erwärmen weniger wirksam wird, und dass dies daran liegt, dass bei Erwärmen dieser Verbindung oder bei Lösung derselben in warmem Wasser dieselbe in die Paraverbindung übergeht, welche viel geringere Desinfectionskraft besitzt. In ähnlicher Weise ermittelten Henle und C. Fraenkel, dass bei den Kresolen die Wirksamkeit in der Reihenfolge der Meta-, Para- und Orthoverbindung abnimmt, was Hammer in seiner bei mir gemachten Untersuchung im Allgemeinen bestätigte; nur bei bestimmten Species war die Paraverbindung etwas wirksamer als das Metakresol.

Wurden die Kresole resp. die rohe Carbolsäure durch Schwefelsäure in der Kälte zur Lösung gebracht, so wirkte die Lösung nach Fraenkel viel energischer auf Infectionserreger, als wenn die Lösung erwärmt wurde. Aber der Grund war nicht der oben für Phenolsulfosäure angegebene, sondern er lag darin, dass sich in der Kälte eine *Mischung* von Kresol und Schwefelsäure resp. eine Lösung von Kresol als solchem in Schwefelsäure (und dabei allerdings auch etwas Kresolsulfosäure) bildet, während in der Wärme Kresolsulfosäure entsteht, die weniger wirksam ist, als das stark saure Gemisch.

Ausser der Sulfonirung ist also auch die Mischung mit Schwefelsäure ein vorzügliches Mittel, um die rohe Carbolsäure resp. die in derselben enthaltenen Phenole in Lösung und damit in Wirksamkeit zu bringen.

Nachdem Koch gezeigt hatte, dass Carbolsäure in Oel und Alkohol gelöst unwirksam ist, ermittelten Buchner und Riedlin 1887, dass man dieselbe durch *Emulgirung* in Seifenspiritus wirksam zur Lösung bringen kann, und Henle und Nocht ermittelten 1889, dass man die rohe Carbolsäure durch Emulgirung resp. Lösung in Seife ebenfalls in wirksame Lösungen überführen kann.

In Form von Emulgirungen finden sich zur Zeit im Handel deutsches und englisches Creolin und eine Nachahmung derselben das Kresolin. Das englische Creolin ist eine *beim Verdünnen* mit Wasser *Emulsion* bildende Mischung von Harzseife, wenig Wasser und Theerölen, welche letztere neben überwiegenden Mengen von werthlosen Kohlenwasserstoffen wechselnde Mengen von höher siedenden Phenolen enthalten. Das deutsche Creolin enthält als emulgirendes Mittel nicht Seife, auch nicht indifferente Gummilösung, sondern sulfonsaure Natriumsalze gewisser Theerdestillationsproducte und wurde in zwei Sorten hergestellt, von denen die eine wenig wirksame, nur Kohlenwasserstoffe, während die andere wirksamere ausserdem höher siedende Phenole enthält. Zum englischen Creolin wird ein Theeröl verwendet, welches so reich an Kohlenwasserstoffen ist, dass der grösste Theil derselben sich *beim Verdünnen emulsionsartig* abscheidet (dabei

der wässerigen Lösung gleichzeitig einen Theil der gelösten Phenole entziehend.)

Verwendet man bei Herstellung solcher Mischungen von Theerölen mit wasserhaltiger Seife jedoch Theeröle, welche sehr arm an Kohlenwasserstoffen und sehr reich an Phenolen sind, so erhält man Producte, welche beim Verdünnen keine Emulsion von ausgeschiedenen Kohlenwasserstoffen geben wie englisches Creolin, sondern welche *klare Lösungen* ergeben. Ein solches Product ist das Lysol.

Wenn Engler meinte und Fröhner dies nachspricht, das Creolin sei eine Lösung von Seife in Theeröl, Lysol dagegen eine Lösung von Theeröl in Seife, so hört sich dies sehr geistreich an, aber es ist eine chemisch unhaltbare Behauptung. Beide Präparate sind Lösungen verschiedener Theeröle in wasserhaltiger Seife. Das Ausgangsmaterial, die Verschiedenartigkeit der Theeröle giebt die Entscheidung, ob Emulsion oder Lösung das Resultat der Verdünnung ist. Wenn neuerdings die Creolinfabrikanten angeben, dass allein der grössere Seifengehalt der Grund der Lösung bei Verdünnen des Lysols sei, so ist dies unrichtig. Nach meinen Versuchen sind verschiedene Kohlenwasserstoffe durch verschiedene Seifen (Harzseife, Glycerinseife, gewöhnliche Kali- und Natronseifen) zwar in verschiedenem Grade löslich, aber *im Vergleiche zu Kresolen* waren *alle* von mir geprüften *Kohlenwasserstoffe* als in *Seife* schwer löslich bis *unlöslich* zu bezeichnen. Je mehr Kohlenwasserstoffe, desto schwerer löslich in Seife, resp. desto mehr Seife ist zur Lösung erforderlich, wenn eine solche überhaupt vollständig eintritt. Ceteris paribus, speciell also bei gleichem Zusatze von Seife, geben die an Kohlenwasserstoffen reichen Theeröle nur Emulsion (Creolin), die an Kohlenwasserstoffen armen aber Lösung (Lysol). Da der Gehalt der Theeröle an Phenolen, besonders auch an Kresol schwankt, so müssten eigentlich die Wirkungen aller derartiger Producte Schwankungen in der Wirksamkeit unterworfen sein.

Ob diese Präparate mit alkalischen Seifen hergestellt werden und deshalb diese Reaction als wesentlich mit zu beachten ist, oder ob sie auch mit neutralen Seifen hergestellt werden, wie neuerdings angegeben wird, vermag ich nicht sicher zu sagen; früher waren die im Handel befindlichen Präparate sicher alkalisch. Die Reaction der Verdünnungen ist aber stets alkalisch, denn selbst ein mit neutraler Seife bereitetes Creolin oder Lysol giebt alkalische Lösungen, weil auch die neutrale Seife mit Wasser in eine alkalisch reagirende basische Seife und in freie Fettsäure zerfällt. Solche alkalische Lösungen oxydiren sich an der Luft und erleiden dadurch Einbusse an Desinfectionskraft. Aber alle Emulsionen und Lösungen mit Seife haben den grossen Uebelstand, dass durch dieselben Hände und Instrumente schlüpfrig werden, was das Operiren und längere Manipuliren stark beeinträchtigt. Der scheinbare Vortheil, dass diese Mittel als Seifen *gleichzeitig* reinigen, ist in Wirklichkeit ein Nachtheil. Man reinigt, wo etwas Unreines zu entfernen ist, aber man reinigt nicht *fortwährend* überflüssiger Weise, wenn die Aufgabe ist zu desinficiren. Jeder vernünftige Mensch wird die *Unreinlichkeiten*, welche als solche am Körper oder an Objecten zu bekämpfen oder welche zum Zwecke des Haftens und Eindringens

von Desinfectionsmitteln zu beseitigen sind, *vorher für sich entfernen*, um ein klares Gesichtsfeld zu bekommen und nunmehr nur noch die Desinfectionsmittel in möglichst einfacher Weise, d. h. in reiner Lösung zur Anwendung zu bringen und *sich nicht diese möglichst klare und unzweideutige Arbeitsweise mit rein gelösten Desinfectionsmitteln durch überflüssige und störende Seifenbeimengungen beeinträchtigen*.

Diese Sache ist eigentlich so natürlich und selbstverständlich, dass man gar nicht begreift, wie sich ärztliche und hygienische Praktiker von einem solchen Gedankengang entfernen konnten. Nur die historische Entwicklung, welche die wirksamen Kresole der rohen Carbolsäure und der Theeröle erst als saure Lösungen und Mischungen, besonders mit Schwefelsäure, dann als alkalische Emulsionen und Lösungen mit Seife brachte, macht es verständlich, dass sich diese Präparate Eingang verschafften. Indem sich diese Präparate zum Theil in der Praxis bewährten, ebneten sie der Anerkennung der Richtigkeit von den grossen Vortheilen der Kresole gegenüber der Carbolsäure auch praktisch die Wege.

Wichtig ist es endlich, die wirksamsten Bestandtheile, die Kresole, rein anzuwenden und nicht mehr unmittelbar von der rohen Carbolsäure oder von Theerölen auszugehen. Vor Allem galt es aber, nunmehr endlich auch eine Methode zu finden, um die *Kresole in neutrale wässerige Lösungen* zu bringen und Säuren und Alkalien zu vermeiden. Die Versuche in der Fabrik des Dr. F. von Heyden Nachfolger in Radebeul bei Dresden führten dann endlich zu einer Lösung, die einer Uebertragung in die Praxis fähig war. Der Ausgang des Princip, welches auch ein allgemeines chemisches Interesse beanspruchen dürfte, lag in folgenden Beobachtungen. Wenn man Natriumsalicylat in Wasser zu lösen versucht, so löst sich nur wenig (I); wenn man Kresol in Wasser bringt, so tritt keine Lösung ein (II); wenn man Natriumsalicylat in Kresol bringt, tritt keine Lösung ein (III); bringt man aber Natriumsalicylat + Kresol in Wasser, so erhält man eine klare neutrale Lösung von Kresol in Natriumsalicylat (IV), welche sich beliebig mit Wasser verdünnen lässt (V). Zur Herstellung solcher Lösungen ist kein destillirtes Wasser nöthig, auch Brunnen- und Leitungswasser bewirkt die Lösung und selbst in stark kalkhaltigem Wasser erfolgt kein Niederschlag (von harzsaurem Calcium). Dagegen giebt Creolin nur in destillirtem und sehr kalkarmem Wasser eine vollkommene Emulsion, während Lysol nur in destillirtem Wasser eine vollkommen klare Lösung bildet.

Nachdem das *neue Princip, klare, neutrale wässerige Lösungen von Kresolen als Solveole herzustellen*, einmal gefunden war, gelang es bald, das salicylsaure Natrium durch andere eventuell praktisch geeignetere Körper zu ersetzen. Dies gelingt z. B. durch andere Salicylate, durch die Salze aller Orthooxybenzolcarbonsäuren, der Orthooxybenzolsulfonsäuren, dann durch benzoësaures Natrium und die entsprechenden Naphthalinabkömmlinge. Aus praktischen Gründen entschied ich mich für eine *Lösung von Kresol in kresotinsaurem Natrium*. Die

eingehende und vergleichende Prüfung, über welche mein Assistent Dr. Hammer berichtet ergab nun zunächst, dass sich ein *Gemisch von Meta-, Para- und Orthokresol* geeigneter erwies als anderweitige Combinationen und als die einzelnen Kresole für sich, was wohl damit zusammenhängen kann, dass bei einem solchen Gemische die mehr specifischen Wirkungen der einzelnen Kresole paralytisch werden und so eine Summierung der Wirkung resultirt, wie sie früher bereits *Rotter* für andere Mischungen ermittelt hatte. Ebenso wählte ich später statt des reinen metakresotinsäuren Natrium das Natriumsalz aus dem Gemische der 3 Kresotinsäuren. *Die Solveole enthalten im Gegensatz zu den aus gewissen Theerölen oder aus roher Carbonsäure hergestellten Präparaten weder die für die Desinfection fast werthlosen Kohlenwasserstoffe, noch das übelriechende, wirkungslose Pyridin, sondern nur höher siedende Theerphenole, hauptsächlich Kresole, ganz frei von der viel giftigeren und unwirksameren Carbonsäure und in constanter, nie wechselnder Menge.*

Soll die Wirkung eines Präparates beurtheilt werden, so muss man sich vorher über die möglichen Infectionsobjecte klar sein und die Anwendungsmöglichkeiten berücksichtigen. Wir haben uns allmählich gewöhnt, zwischen der Bekämpfung der Infectionserreger am und im Körper und derjenigen ausserhalb desselben einen Unterschied zu machen und nennen das erstere Verfahren Antisepsis, das andere Desinfection im engeren Sinne. In der antiseptischen Methode hat man, wie auch sonst, die Erfahrung gemacht, dass die Verhütung der Sepsis vortheilhafter und erfolgreicher ist, als die Bekämpfung der schon vorhandenen Sepsis, und die Wundbehandlung ist jetzt mehr Asepsis als Antisepsis. Neben Lister ist Semmelweis wieder zu Ehren gekommen. Bei der Asepsis wird das Berühren und Eindringen von Infectionskeimen unmöglich gemacht und, so weit dies praktisch nicht ganz erreichbar ist, verhindert, dass die Keime auskeimen können.

Diese beiden, praktisch nicht ganz scharf zu trennenden Aufgaben stellen an ein Desinfectionsmittel geringere Ansprüche resp. lassen das Ziel mit geringen Mengen eines Mittels erreichen, als wenn die bereits vorhandene Infection, die Sepsis, direct bekämpft werden muss.

Die experimentellen Erfahrungen und die praktischen Resultate haben gezeigt, dass bei diesen am Körper des Menschen in Betracht kommenden Methoden der Asepsis und Antisepsis vorwiegend vegetative Formen oder wenigstens nicht oder nur ausnahmsweise die resistenteren Dauerformen der Infectionserreger zu verhüten oder zu bekämpfen sind, während bei der Desinfection ausserhalb gerade die Dauerformen eine grosse Rolle spielen. In meinem Laboratorium ergab sich nun, dass für die Asepsis von dem neutralen Kresol circa 0.3 pCt., für die Antisepsis 0.5 pCt. *Kresol* allen Anforderungen entsprach, und dass letztere Lösung bereits *innerhalb 5 Minuten auch die resistantesten vegetativen Infectionszellen vernichtete*. Nach den vergleichenden Versuchen stellte sich heraus, dass es sich hierbei um die reine Kresolwirkung handelte und dass diese *circa 4 Mal stärker war als die der reinen Carbonsäure so dass eine 0.5 procentige Kresollösung annähernd so*

wirksam ist, wie eine 2 procentige Phenollösung. Die Orthrophenolsulfosäure erwies sich von Neuem kräftiger als reine Carbolsäure, reichte aber nicht ganz an Kresol heran.

Die Wirksamkeit der anderen in Handel befindlichen kresolhaltigen Präparate, des Lysol und englischen Creolin erwies sich streng abhängig von ihrem Gehalt an gelöstem Kresol, und zwar war hiernach stets mit Rücksicht auf die wirkliche Lösung des Kresols das *Solveol* und *Lysol* wirksamer als *Creolin*. Dies stimmt auch genau mit den Ermittlungen von Gruber, der Lysol und die von ihm hergestellte Lösung von Kresol in Schmierseife wirksamer fand als das (nur emulgierte Kresol des) Creolin. Jede Ueberführung aus dem Zustande der Emulsion in den der Lösung erhöht die Wirksamkeit.

Wir müssen, von seltenen Fällen abgesehen, aber *wirkliche Lösungen* verlangen, die sich in ihrer Dosirung und Anwendungszeit genau beherrschen lassen, während man bei Emulsionen immer auf Zufälligkeiten angewiesen ist, von deren Eintritt es abhängt, ob die Emulsion am Körper aus dem unwirksamen oder wenig wirksamen emulgirten Zustand in den gelösten wirksamen übergeführt wird. Experimentell zeigte sich bei den Versuchen mit Keimen in *Flüssigkeiten gar kein hemmender Einfluss* der mit übertragenen emulgirten Kresoltheilehen, und wuchsen die Keime in den Flüssigkeiten mit Creolin *ceteris paribus* stets schneller und üppiger als bei Lysol und Solveol. Für die Mehrzahl der Fälle, welche in der menschlichen Pathologie in Betracht kommen, sind deshalb *gelöste Kresole* den *emulgirten überlegen und vorzuziehen* und unter den gelösten Kresolen entsprechen nur *die Solveole als einfache wasserlösliche neutrale Kresole* den *Anforderungen welche wir heutigen Tages an derartige Körper stellen müssen*.

Ob es für Ausnahmefälle oder in der Thierpathologie zur Bekämpfung von Fällen wie Milben bei Schafen einmal vorthellhaft sein kann, dass die emulgirten Kresoltheilehen länger haften, soll nicht bestritten werden, wenn dieselben auch in derartigen Fällen nicht gerade immer an den Infectionserregern haften. *Das Haften an den Infectionserregern kann ein Auskeimen derselben verhüten und so ein Abtöden derselben vortäuschen*. Dies wurde für Sporen direct ermittelt. Bei diesen Versuchen sahen anfangs Creolin dem Lysol und Solveol überlegen und *schienen* die Sporen durch Creolin bereits getödtet als dies mit den anderen Körpern noch nicht der Fall war. Eine Correctur der Versuchsanordnung ergab aber eelatant, dass durch das *Anhaften der Creolinpartikelchen das Auskeimen verhütet war*, dass *aber auch den Sporen gegenüber die wirkliche Desinfectionskraft von der Lösung des Mittels abhing*.

Die *wirkliche Vernichtung der Sporen* erfolgt durch Solveol und Lysol sicherer und schneller als durch Creolin und erwies sich das letztere sogar als ein gegen Sporen wenig brauchbares Mittel. Die Vernichtung der Sporen kommt bei Asepsis und Antisepsis, d. h. bei der medicinischen Anwendung fast nie in Betracht, so dass die Beobachtung, dass selbst Solveol und Lysol Sporen erst in mehreren Tagen ganz tödten, für die *medicinische Anwendung* kein Hinderniss

sein kann. Mit Rücksicht auf die Emulgirung resp. Lösung mit Seife und auf die stets alkalische Reaction dieser Verdünnungen entsprechen aber Creolin und Lysol unseren medicinischen Anforderungen nicht und *allein die neutralen wasserlöslichen Solveole bieten die Kresole in einer Form dass durch dieselbe die weniger-wirksame Carbolsäure erfolgreich ersetzt werden kann.*

Die *Giftigkeit der Kresole* ist verschiedenen Species gegenüber eine verschiedene, glatt- und langhaarige Meerschweinchen zeigen bereits grosse Unterschiede, noch grössere Kaninehen, und der *Mensch* scheint, nach Erfahrungen mit Creolin beurtheilt, der Kresolvergiftung *relativ wenig* zugänglich. In der von Behring eingeführten Weise an glatthaarigen Meerschweinchen geprüft, erwiesen sich die reinen Kresole ebenso giftig wie Carbolsäure. Da die Desinfectionskraft aber eine viermal grössere ist, so würde demnach *Kresol nur den vierten Theil so giftig sein wie Phenol*. Vermuthlich reducirt sich dies aber für den *Menschen* noch *specifisch weiter*, so dass bei nur 0·3–0·5 procentigen Lösungen von Kresol eine *Vergiftungsgefahr ausgeschlossen* erscheint.

Bei gleichem Kresolgehalt erwiesen sich Solveol und Lysol auch gleich giftig, während Creolin etwas weniger giftig schien. Diese geringere Giftigkeit ging ganz genau parallel mit der geringen Leistungsfähigkeit des Creolins und war nur abhängig von seiner Form, d. h. davon, dass im Creolin eben weniger Kresol gelöst war, worin man wohl nach dem vorhin dargelegten als Regel keinen Vortheil, sondern einen Nachtheil der Emulsion zu erblicken hat.

In stärkerer Concentration bewirken die gelösten Kresole ein ähnliches Kribbelgefühl in der Haut wie starke Carbolsäurelösungen. Bei dem geringeren Gehalt an Kresol, der für diese *medizinische* Anwendung erforderlich ist, hält sich aber dieser Uebelstand und die Giftwirkung in Grenzen, welche praktisch kaum in Betracht kommen dürften. Für die aseptischen Operationen dürfte sich der Gehalt von 0·3 p.Ct. Kresol wohl noch bis auf 0·1 p.Ct. reduciren lassen.

Bei der *groben Desinfection ausserhalb* kann man von derartigen Dingen etwas mehr absehen, die Reaction braucht nicht so ängstlich in Betracht gezogen zu werden, wenn nur die Wirkung eine schnelle und sichere ist und die Objecte nicht leiden. Die von Laplace empfohlene, kalt bereitete Lösung roher Carbolsäure in Schwefelsäure lässt sich vortheilhaft verwenden, noch besser ist die von C. Fraenkel vorgeschlagene Lösung von Rohkresolen in Schwefelsäure. Leider sind beides vorwiegend Mischungen mit Schwefelsäure und die letztere ist als solche vorhanden. Dies ist aber für die meisten Objecte bei den zerstörenden Eigenschaften der Schwefelsäure ein grosser Uebelstand. Die Lösung der rohen Carbolsäure oder Kresole in gewöhnlicher alkalischer Seife dürfte deshalb vorzuziehen sein, weil ihre Wirkung gross ist, sie die Objecte nicht so angreift und die todten Objecte gleichzeitig reinigt, was in diesem Falle wohl ein Vortheil ist. Die Herstellung neutraler Kresole für den medicinischen Gebrauch führte dann auch noch zu einer, sehr vortheilhaften Methode *Rohkresole für die gewöhnliche Desinfectionspraxis in alkalische Lösung als Solutole zu bringen*. Bringt man nämlich Kresol in Ueberschuss in ein Gemisch resp.

Lösung von caustischer Soda und Wasser, so entsteht Kresolnatrium, und in diesem löst sich der Ueberschuss von Kresol, man erhält also Lösungen von *Kresol in Kresolnatrium* welche sich beliebig mit Wasser verdünnen lassen. In ähnlicher Weise kann man gebrannten Kalk anwenden und erhält dann lösliches Kresolcalcium. 20 proeentige Lösungen dieser Solutole tödteten Milzbrandsporen und dicke Auftragnngen von Rotzbacillen in kurzer Zeit. Durch Anwendung warmer Lösungen liess sich die Zeit auf wenige Minuten abkürzen. Als Lauge dringen die alkalischen Solutole leicht überall ein, und zugleich greifen sie Holz- und Metallgegenstände, Mauerwerk und Cement nicht oder doch nicht annähernd so an, wie die Schwefelsäuremischungen.

Auch die grobe Desinfectionspraxis hat hiernaeh durch Einführung der Kresole einen wesentlichen Fortschritt erfahren und ist wesentlich billiger geworden.

DISCUSSION.

Prof. Max Gruber (Vienna): Nur wenige Worte der Erwidrung an den Collegen Hueppe.

Es ist sehr tröstlich, dass er angibt bei der Prüfung seiner Präparate alle die Vorsichtsmassregeln angewendet zu haben, die ich soeben als notwendig bezeichnete, denn die Angaben von Fränkel über die Gemische von Kresol und Schwefelsäure, von denen er ausgegangen ist, sind unrichtig.

Fränkel hat angegeben, dass eine 5 % ige Lösung des Gemisches gleicher Theile Kresol und Schwefelsäure Milzbrandsporen binnen 6 Stunden tödte; thatsächlich bleiben sie tagelang darin lebendig, und selbst einer 10 % igen Lösung vermögen sie manchmal durch 24 Stunden zu widerstehen.

Was die Kresol-Schmierscife betrifft, so kann College Hueppe versichert sein, dass ich die Literatur genügend kenne, um nicht in die Meinung zu verfallen, dass die Thatsache, dass man Kresol durch Seife lösen kann, neu sei. Seit Jahren weiss man, dass die Creoline ihre—allerdings sehr bescheidene—Wirksamkeit diesem Umstande verdanken. Schon 1889 hat Nocht Lösungen von Kresol in Seife zur Desinfection verwendet. Nocht veröffentlicht bisher war nur die bequeme Art und Weise, sich das wirksame Präparat zu verschaffen.

Ueber die Herstellung des Lysol war ich seit langem nicht mehr im Zweifel. Ich habe es auch geprüft, und mit meinem Präparate bezüglich der Desinfectionskraft identisch gefunden. Ich habe nur der Kürze der Zeit halber diesen Umstand beim mündlichem Vortrage nicht erwähnt. Leider habe ich aber soeben von dem Lysolfabrikanten Herrn Bottler erfahren, dass sich das Patent auch auf die Mischung von fertiger Seife und Kresol erstreckt. Ich hatte den betreffenden—wohl absichtlich unklar gehaltenen Passus der Patentschrift überschen. Ich kann nur auf's Lebhafteste bedauern, dass dieses Patent ertheilt wurde, und dass es auf diese Weise möglich geworden ist aus einer so einfachen Manipulation unverhältnissmässig grossen Gewinn zu ziehen.

Dr. Hans Buchner (Munich):—Die Mittheilungen von Gruber über Desinfectionsversuche mit Sublimat bei Milzbrandsporen veranlassen mich zu der Bemerkung, dass auch in meinem Laboratorium neuestens Resultate erhalten wurden, welche jene Angaben durchaus bestätigen.

Es handelte sich dabei um vergleichende Versuche über den Desinfectionswerth von Sublimat, Quecksilbercyanid und Quecksilberoxycyanid ($\text{Hg O Hg}(\text{CN})_2$), und ich möchte den Anlass ergreifen, um die Aufmerksamkeit der Versammlung und namentlich unseres hochverehrten Präsidenten, der ersten Autorität auf dem Gebiete der Antisepsis, besonders auf das letztere Präparat hinzulenken. Dasselbe besitzt ungefähr die gleiche Desinfectionskraft wie Sublimat, wirkt aber auf die Schleimhäute viel weniger reizend und hat auch wesentlich geringere Neigung, mit Eiweisskörpern Niederschläge zu erzeugen. Die Versuche wurden theils mit Milzbrandsporen, theils mit nichtsporenbildenden Bacterien, z. B. *Bacillus pyocyaneus*, ausgeführt in der Weise, dass eine sehr dichte Emulsion der betreffenden Bacterienart mit der antiseptischen Lösung gemischt, dann nach bestimmter Zeit Proben daraus entnommen, und diese zunächst in sterile Bouillon übertragen wurden. Hier fand nun eine bedeutende, mehr als tausendfache Verdünnung des Antisepticums statt, und von da aus wurden nun erst die Aussaaten auf das eigentliche Nährmedium übertragen. Bei diesem Verfahren erhielten wir, wie erwähnt, mit Sublimat Resultate, welche bewiesen, dass bisher auf Grund der Versuche mit Seidenfäden die tödtende Wirksamkeit des Sublimats bedeutend überschätzt worden ist. Was übrigens die Sporen-Seidenfäden betrifft, so vermag ich mich der Meinung Behrings nicht anzuschliessen, der neuerdings ihre Anwendung als Testobject wieder vertheidigt, weil die Seidenfäden den natürlichen Bedingungen (infectirte Kleider u. s. w.) am besten entsprechen sollen. Derartige Versuche haben nur dann einen Werth, wenn die Aufgabe eine genau umgrenzte ist, und dies ist nicht der Fall bei so complicirten Bedingungen, wie sie durch Anhaften der Sporen an Seidenfäden geschaffen werden. Wenn man aber die Aufgabe klarstellt und mit suspendirten Bacterien arbeitet, dann erhält man Resultate, welche die Angaben von Gruber und die früheren von Geppert vollkommen bestätigen.



Rapports du *Bacillus coli communis* avec le Bacille d'Eberth, et l'Étiologie de la Fièvre typhoïde.

(Recherches faites au laboratoire de médecine expérimentale de la
faulté de Lyon par MM. M. Rodet, M. G. Roux, M. Vallet.)

PAR

le Professeur ARLOING, Directeur du Laboratoire, Lyon.



A.

Je ne compte pas faire une étude complète de l'étiologie de la fièvre typhoïde, mais exposer simplement certaines idées qui ont pris naissance dans mon laboratoire à la suite de l'examen bactériologique de certaines eaux suspectes d'avoir produit la fièvre typhoïde.

Avant 1887 nous acceptions le rôle étiologique du bacille d'Eberth tel qu'il avait été tracé par Eberth, Koch, Gaffky, tel qu'il semblait résulter des recherches bactériologiques de Brouardel, Chantemesse et Widal, etc., etc.

Le bacille d'Eberth était, d'après cette manière de voir, rejeté par les malades avec les fèces, puis revenait aux individus sains avec l'eau potable.

Par suite toute eau accusée d'avoir produit la fièvre typhoïde recélait ou avait recélé le bacille d'Eberth.

B.

En 1887, mon laboratoire fut amené à examiner l'eau du collège de Cluny (Saône-et-Loire), où la fièvre typhoïde avait frappé 119 personnes sur 215. M. Rodet, agrégé, chef des travaux, fut chargé de cet examen.

En cherchant le bacille d'Eberth, il rencontra un microbe qui ne possédait pas complètement tous les caractères assignés au bacille d'Eberth, soit dans les cultures sur milieux divers, soit dans les préparations microscopiques.

C.

Ce bacille, cultivé à plusieurs générations et sur différents milieux et à diverses températures, présente un polymorphisme macroscopique et microscopique remarquable qui le faisait ressembler tantôt au bacille d'Eberth, tantôt au *bacillus coli communis* d'Escherich.

Finalement, ce sont les caractères de ce dernier qui parurent l'emporter. M. Rodet en conclut que l'eau de Cluny était souillée par le *bacillus coli*, souillure qui ne détruisait en rien l'origine fécale de la fièvre typhoïde généralement admise.

D.

M. Rodet en était donc à se demander si la fièvre typhoïde n'aurait pas quelquefois pour cause l'ingestion du *bacillus coli*, lorsqu'il eut encore deux occasions de trouver un bacille ressemblant plus au *coli* qu'à l'*Eberth*, dans l'eau qui servait à l'alimentation de groupes parmi lesquels la fièvre typhoïde fit des ravages : 1° dans l'eau de la petite commune d'Argenton dans les Basses-Alpes, où M. Désir de Fortunet observa une épidémie typhoïde ; 2° dans l'eau d'une fontaine située à Verjon (Ain), où la fièvre typhoïde est endémique.

E.

M. Gabriel Roux, de son côté, trouva exclusivement le *bacillus coli* dans l'eau d'un puits situé au centre d'une maison de la ville de Lyon dans laquelle on observa 9 cas de fièvre typhoïde parmi les personnes qui faisaient usage de l'eau de ce puits.

F.

MM. Rodet et G. Roux partagèrent alors les mêmes soupçons au sujet du rôle étiologique du *bacillus coli*, et, portant leurs investigations du côté des malades, ils rencontrèrent plusieurs cas où la culture des selles de typhoïsants donna d'emblée et *exclusivement* le *bacillus coli*, et d'autres cas où le *bacillus d'Eberth* existait dans la rate et le *bacillus coli* dans l'intestin.

G.

Les constatations faites par MM. Rodet et Roux ne sont pas uniques dans la science, notamment en ce qui regarde l'altération des

eaux typhoïdantes. On a signalé quelques cas où l'analyse a révélé au lieu du bacille d'Eberth un bacille commun dans les matières fécales (Charrin); mais on n'avait pas songé à attacher d'importance à ces observations.

H.

Pour que les suppositions de MM. Rodet et G. Roux acquissent une sérieuse importance, il fallait établir entre le *bacillus coli* et le bacille d'Eberth :

1° des relations morphologiques et biologiques expliquant que l'un a pu être pris pour l'autre, et réciproquement ;

2° une certaine communauté d'action pathogène.

1° MM. Rodet et Roux se sont attachés à la poursuite de ces relations.

Ces expérimentateurs n'ont pas trouvé entre ces microbes un caractère différentiel capable d'être élevé à la hauteur d'un caractère spécifique.

a. On a dit que sur la pomme de terre le bacille d'Eberth formait des colonies caractéristiques, minces, à peine sensibles, tandis que le *coli* donnait des colonies épaisses, jaunâtres, puis foncées.

MM. Rodet et Roux ont remarqué que cette différence n'est pas constante ; parfois, on ne sait pas à quel microbe on a affaire. Après vieillissement en bouillon, le *coli* donne des cultures minces sur pomme de terre. Réciproquement ils ont vu l'Eberth retiré de la rate donner des cultures épaisses.

On sait d'autre part que quelques auteurs, M. Vaillard, par exemple, a vu l'Eberth donner des colonies épaisses et foncées, surtout quand le bacille paraissait avoir souffert antérieurement.

Fraenkel, Simmonds et Büchner ont fait remarquer que l'épaisseur des colonies tient souvent à la qualité et à la réaction de la pomme de terre.

b. On a dit que généralement le *coli* se colorait beaucoup mieux que l'Eberth, mais lorsque le *bacillus coli* a vieilli, il ne se colore pas mieux.

c. On a dit aussi que le bacille d'Eberth seul décolorait la gélatine fuscinée, mais il est aujourd'hui reconnu que le *bacillus coli* se comporte de la même manière.

d. On a fait remarquer l'extrême mobilité de l'Eberth, mais le *coli* est aussi agile quand on l'a entretenu en présence de l'acide phénique ou lorsqu'on l'a fait passer dans le sang d'un cobaye.

e. Quant à la forme des bacilles, à leurs dimensions, à leur aspect, MM. Rodet et Roux ont remarqué qu'ils sont sujets à de nombreuses variations de même ordre.

En général très uniformément courts l'un et l'autre, soit à la sortie de la rate pour l'Eberth, soit à la sortie de l'intestin pour le *coli*, ils s'allongent tous les deux, dans des cultures successives, prennent des formes anormales, des zones de condensation, etc. etc. Par exemple le

coli devient *Eberthiforme*, selon l'expression de M. Roux, quand il *vieillit*, quand il a été *chauffé* à 80°, * quand il a été *cultivé* à 44°–46°.

Les modifications s'observent sur le *coli* de toute provenance (intestin de l'homme sain, intestin du typhique, fosse d'aisance).

Enfin, M. Roux a trouvé dans des taches rosées sur un malade un microorganisme dont les cultures avaient un aspect intermédiaire entre celui des cultures de l'*Eberth* et du *coli*.

Conclusion.—L'*Eberth* et le *coli* semblent deux variétés de la même espèce. Le *coli* se transformerait en *variété Eberth* dans l'organisme du malade. La *variété Eberth* serait généralement un peu plus fragile que la *variété coli*.

2° Les effets pathogènes des cultures du *bacillus coli* et du *bacillus d'Eberth* étudiées avec soin par M. Rodet, sur deux espèces animales, le *lapin* et le *cobaye*, à la suite de l'introduction dans les veines, dans le péritoine, dans les voies digestives, sont sensiblement les mêmes.

Tantôt les animaux ont survécu, surtout parmi les lapins, tantôt ils ont succombé, surtout parmi les cobayes, en montrant les lésions suivantes :

Estomac et intestin grêle remplis de liquide.

Intestin congestionné ; plaques de Peyer tuméfiées (ulcérées 1 fois).

Rate et foie gonflés, parfois recouverts d'un exsudat fibrineux.

Dans quelques cas, il a rencontré le microbe dans le sang à l'aide de la culture ; dès la première génération, le *bacillus coli* puisé dans ce milieu est devenu très long et très mobile.

I.

MM. Rodet et Roux conclurent que les microorganismes décrits sous le nom de *bacillus coli communis* et de *bacillus d'Eberth* appartiennent à la même espèce pathogène dont ils forment deux variétés éloignées l'une de l'autre, quand elles se présentent avec leurs caractères classiques, mais reliées l'une à l'autre par une série de formes de passage.

L'organisme humain semble être un milieu favorable à la transformation de la variété *coli* en variété *Eberth*. L'une et l'autre serait capable de produire la fièvre typhoïde.

J.

À l'appui des idées polymorphistes de MM. Rodet et Roux on peut citer les observations plus récentes :

de M. M. *Cassedebat* reconnaissant dans les eaux de Marseille trois bacilles pseudotyphiques plus ou moins *Eberthiformes* ;

* Le chauffage a été fait dans les conditions suivantes : quelques gouttes de cultures en bouillon du *bacillus coli communis* ont été enfermées dans de petits tubes en verre, dits tubes homœopathiques, et ceux-ci étaient plongés dans une masse d'eau chauffée à la température de + 80°, en même temps que des tubes semblables contenant la même quantité de culture du *bacille d'Eberth*. On observa que le *Bacille d'Eberth* était tué plus vite que l'autre, et l'on vit qu'au bout de 13 minutes le *bacillus coli* était modifié au point de perdre quelques-uns de ses caractères particuliers.

de M. *Wiltshur* concluant à la difficulté de distinguer le bacille d'Eberth de certains bacilles saprogènes et de deux espèces que l'on trouve souvent dans les organes sur les cadavres des typhiques.

de M. Babès reconnaissant le défaut de précision des caractères attribués au bacillus d'Eberth et admettant la présence chez les typhiques du bacillus coli et de formes atypiques ou de variétés assez nombreuses du bacillus d'Eberth. Quelques-unes de ces formes atypiques doivent, peut-être, d'après l'auteur, leurs qualités spéciales à ce qu'elles ont végété plus longtemps à l'état de saprophytes.

M. Babès admet que ces formes atypiques peuvent contribuer à exercer une action nocive sur l'organisme, en aidant au bacille typhique, qui seul serait capable de produire le fièvre typhoïde.

K.

MM. Rodet et Roux vont plus loin et attribuent au *bacillus coli* le pouvoir de faire naître la fièvre typhoïde, aussi bien qu'au bacillus d'Eberth.

L.

Il résulte d'expériences faites par M. Vallet, sous la direction de M. Rodet, que le *bacillus coli* puisé dans les matières fécales fermentées est plus pathogène pour le cobaye que le *bacillus coli* retiré de l'intestin de l'homme sain, et même plus pathogène que le bacillus d'Eberth puisé dans la rate d'un malade.

M.

En continuant ses expériences, M. Vallet a fait une observation très intéressante pour l'étiologie de la fièvre typhoïde :

Il a vu que le *bacillus coli* s'entretient très bien dans les matières fécales en fermentation ; il pullule même fort bien dans la partie liquide filtrée d'une fosse d'aisance, où il prend rapidement les caractères des formes plus ou moins anormales du bacille d'Eberth, tandis que le bacille d'Eberth vrai ne végète pas dans ce liquide. Des recherches se poursuivent pour savoir combien de temps il peut y conserver son pouvoir végétatif et pathogène.

Dores et déjà, on peut donc dire qu'une fosse d'aisance qui reçoit des selles de typhoïsant se peuplera difficilement de bacille d'Eberth, tandis qu'elle s'enrichira en *bacillus coli* très virulent. Les eaux avoisinantes ont donc plus de chances d'être contaminées par le *coli* que par l'Eberth.

N.

En résumé le *bacillus coli*, hôte habituel de l'intestin, peut engendrer sur les animaux des troubles analogues à ceux que produit le bacille d'Eberth ; il peut s'entretenir et pulluler dans les fosses d'aisance, y acquérir une malignité plus grande et de là se répandre plus ou moins dans la nappe d'eau souterraine, les puits et les fontaines. Il offre avec l'Eberth des caractères communs qui deviennent plus nombreux et plus importants dans certaines conditions de milieu.

Il est donc naturel de lui faire jouer un rôle et peut-être le plus fréquent dans la pathogénie de la fièvre typhoïde, car il est beaucoup plus répandu que le bacille d'Eberth.

O.

L'opinion avancée par mon laboratoire donne raison à Murchison contre Budd, qui regardait l'origine typhique des matières fécales comme indispensable à la genèse de la fièvre typhoïde, toute réserve faite relativement aux opinions de l'époque sur la nature du contag.

Sans doute, la souillure des eaux par le bacille d'Eberth peut causer la fièvre typhoïde.

Mais la maladie peut succéder à la pollution des eaux par le *bacillus coli*, surtout lorsque celui-ci a été modifié dans sa virulence par son passage dans une fosse d'aisance.

On peut expliquer ainsi la création d'un foyer épidémique en dehors d'un malade, fait que la pratique a plusieurs fois relevé.

Il est possible aussi d'expliquer l'apparition de la fièvre typhoïde en dehors de l'usage d'une eau polluée par des matières fécales, autotypisation, puisque nous portons le germe dans notre intestin.

Il suffit que des conditions particulières, à la tête desquelles paraît se placer le surmenage, viennent favoriser son introduction dans la muqueuse intestinale et le sang, ou bien en accroître la virulence, pour que la fièvre typhoïde éclate chez certains individus, en dehors d'une infection dans le sens propre du mot.

Pourquoi n'admettrait-on pas cette étiologie, puisque nous ne faisons pas de difficultés pour en accepter une analogue pour la pneumonie et certaines angines ?

J'ajouterai, d'ailleurs, que les idées avancées par mon laboratoire ont reçu un commencement de confirmation hors de Lyon.

M. Macé, dans la dernière édition de son livre sur la bactériologie, cite un malade atteint de fièvre typhoïde, dont la rate contenait le *bacillus coli*. La maladie dans ce cas se distinguait des formes habituelles par une marche lente et une faible gravité.

P.

M. Vallet a fait une seconde remarque très intéressante.

La partie liquide et filtrée d'une fosse d'aisance, diluée à raison de 60 pour 1,000, a été administrée à des lapins et à des cobayes. M. Vallet a vu que les animaux supportaient très bien cette boisson, malgré un usage prolongé. Plus tard, lorsqu'il a inoculé ces animaux dans le péritoine, soit avec des cultures de *bacillus coli*, soit avec des cultures du *bacillus d'Eberth*, il les a trouvés plus résistants que les animaux vierges.—D'où l'on peut conclure logiquement que l'on a créé chez eux un commencement d'immunité comme on le créerait avec certaines substances chimiques ou cultures filtrées.

A voir les caractères organoleptiques d'une eau qui contient 6-10 pour 1,000 de liquide filtré des fosses d'aisance, on conçoit que l'homme puisse ingérer pareille boisson sans défiance.

Nous en tirons deux conséquences :

- a. Si l'infiltration s'accompagne d'une migration de microbes, alors on peut boire une eau contaminée sans s'en apercevoir.
- b. Si l'infiltration ne laisse passer que la partie liquide, alors en buvant cette eau souillée on acquiert une certaine immunité.

Peut-être est-ce de cette manière que se crée l'immunité que l'on constate d'une manière si évidente chez les jeunes soldats qui viennent des grandes villes où les occasions de pollution de l'eau par les matières fécales sont plus nombreuses qu'à la campagne.



La Recherche du Bacille typhique et du Bacillus Coli communis dans les Eaux de Boisson.

PAR

le Dr. H. VINCENT, Aide-major de 1^e classe, attaché au Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital militaire du Dey, Alger.



I.—La recherche du bacille typhique et des organismes des matières fécales dans les eaux potables emprunte une grande importance aux faits aujourd'hui nombreux dans lesquels l'épidémiologie et l'analyse bactériologique ont démontré le rôle étiologique des eaux ainsi adultérées, dans la propagation de la fièvre typhoïde. Depuis longtemps, en effet, l'École anglaise a fixé les idées sur l'origine hydrique habituelle de cette affection, et les progrès de la microbiologie ont déjà permis, dans un nombre imposant de cas, de déceler, dans les eaux suspectes l'agent pathogène de la fièvre typhoïde (Möhrs, Ivan Miehäel, Chantemesse et Widal, Thoinot, Loir, Vaillard, Macé, Vincent, &c. . .).

Ce n'est point, cependant, que cette constatation soit, d'ordinaire, aisée et la recherche du bacille d'Eberth dans les eaux est peut être une des opérations les plus délicates de la bactériologie. Les eaux de boisson, en effet, doivent leurs propriétés pathogènes à leur contamination directe ou indirecte par des matières fécales spécifiques; or, celles-ci apportent avec elles, indépendamment du bacille typhique, une infinité de saprophytes, d'organismes de la putréfaction, de la fermentation ammoniacale, etc., au milieu desquels il devient fort difficile de dépister le microbe typhogène.

A côté des méthodes usuelles de culture telles que les plaques de gélatine, on a donc été amené à employer des procédés plus spéciaux, basés sur certaines propriétés du bacille typhique. La méthode d'isolement que nous avons décrite* a été appliquée à un grand nombre

* H. Vincent.—Sur un nouveau procédé d'isol. du bac. typh. *Soc. de Biol.*, 1^{er} Févr. 1890 et *Ann. de Microgr.*, Juin 1890.

d'analyses microbiennes d'eaux de boisson consommées par les troupes ; elle a encore été essayée pour la recherche de la durée de la vitalité du bacille dans des liquides ou des matières organiques en putréfaction souillés artificiellement avec de petites quantités de cet organisme, et elle a donné, dans ces divers cas, des résultats souvent précieux.

Depuis lors il a été publié, à l'étranger et en France, des procédés dont les uns, presque identiques au précédent ne se réclament peut-être point assez sincèrement de l'original et dont les autres, inspirés du même principe que le nôtre, sont, d'après les essais comparatifs que nous en avons faits, à la fois plus compliqués et moins efficaces.

C'est pourquoi il nous a paru utile de revenir sur la technique de notre procédé, soit pour en développer la description, soit pour y ajouter plusieurs perfectionnements que nous avons été amené à y introduire.

Ainsi que l'ont démontré MM. Chantemesse et Widal, le bacille typhique possède, vis-à-vis de l'acide phénique, une grande résistance ; il n'est tué qu'après 9 jours par l'acide phénique à 5 % (Cadéac et Meunier). Lorsqu'on abandonne, à la température ambiante, du bouillon phéniqué à 0.75 p. 1,000 auquel on a ajouté, en même temps qu'un grand nombre de saprophytes divers, une faible quantité de culture du bacille d'Eberth, ce bouillon se trouble lentement, faiblement et, parmi les rares espèces bactériennes qui l'ont fécondé se trouve le bacille typhique.

On peut obtenir un isolement beaucoup plus complet en portant le bouillon, aussitôt après l'ensemencement précédent, à l'étuve à 38° ; il est même rare que, dans ces conditions, le bacille typhique ne se développe pas seul.

Enfin, à la température de 41°, la sélection est encore plus parfaite, et l'élimination des saprophytes plus sûre.

Le principe de la méthode étant connu, il nous reste à entrer dans les détails de son application.

II.—(a.) On prend 6 tubes de bouillon de bœuf peptonisé contenant chacun 10 cent. cubes de bouillon et l'on verse, dans chacun d'eux, à l'aide d'une pipette (jaugeant 40 gouttes au centimètre cube), cinq gouttes de la solution suivante :—

Eau distillée	-	-	-	-	100 grammes.
Acide phénique cristallisé	-	-	-	-	} aa. 6 grammes.
Aeool	-	-	-	-	

Dans deux de ces tubes, on ajoute un supplément de *une, deux,* ou *trois* gouttes de la même solution phéniquée : ces tubes sont mis à part.

On verse alors, dans chacun des quatre premiers tubes de bouillon phéniqué, une proportion de cinq à vingt gouttes de l'eau à analyser.

Le tube de bouillon phéniqué à 6 gouttes, seraensemencé avec trente gouttes de l'eau à analyser.

Enfin le dernier tube de bouillon, qui a reçu un supplément de deux à trois gouttes d'acide phénique, seraensemencé avec un centimètre cube et demi de l'eau à analyser. L'addition supplémentaire

d'acide phénique dans les deux derniers tubes est destinée à conserver au mélange d'eau et de bouillon son titre constant d'acide phénique, qui doit être approximativement de 0.75 pour 1,000.

Il sera évidemment très facile d'opérer sur de grandes quantités d'eau en augmentant, dans des proportions respectives, les doses de bouillon phéniqué et d'eau à analyser. Mais dans les conditions habituelles, l'opération telle qu'elle est indiquée ci-dessus, suffit pour l'isolement du bacille typhique et du *Bacillus Coli communis* dans les eaux polluées.

(b.) On agite les tubes, on les ferme d'un capuchon de caoutchouc, et on les porte à l'étuve réglée exactement à 41°.

Deux cas peuvent alors se présenter : ou bien les bouillons restent indéfiniment clairs, et l'on peut affirmer, dès lors, que l'eauensemencée ne contenait pas le bacille d'Eberth ni le *Bac. Coli* ;

Ou bien les bouillons se troublent, ce que se produit un moyenne de 8 à 16 heures après l'ensemencement.

Dans les cas simples, par exemple pour extraire le bacille d'une rate de typhoïdique, un seul passage en bouillon phéniqué suffit et permet d'obtenir l'organisme très pur et très mobile au bout de 36 heures. Il importe de noter que, examiné dans le bouillon phéniqué, le bacille typhique est à peu près immobile et se présente sous la forme de diplocoques ou de diplobacilles très courts. On ne se laissera pas tromper par cet aspect car, ensemencé dans le bouillon normal, il y récupère tous ses caractères habituels.

Lorsqu'il s'agit, au contraire, d'une eau très impure, un deuxième passage phéniqué devient nécessaire. Dans ce cas, et *dès que les premiers tubes commencent à se troubler à peine*, on fait subir à chaque culture une deuxième épuration en ensemencant le contenu de chaque tube dans de nouveaux tubes de bouillon phéniqué qu'on porte encore à l'étuve à 41°. Les bouillons de second passage se troublent plus vite que les premiers. Il sera inutile de réensemencer les tubes de premier passage présentant une culture floconneuse, granuleuse, ou recouverte d'une pellicule. Ces tubes doivent être rejetés et le nombre des ensemencements se restreint ainsi si l'on réserve uniquement les cultures présentant le trouble le plus uniforme.

Généralement deux passages suffisent. Pour les eaux ou les liquides extrêmement riches en germes, un troisième passage sera nécessaire. Mais il sera alors très avantageux, dans l'intervalle du 1^{er} au 2^e passages, ainsi que du 2^e au 3^e passages en bouillon phéniqué, de faire subir à la culture impure qui s'est développée une sorte de stade de repos, et d'ensemencer le produit des cultures phéniquées dans du bouillon simple qu'on porte à l'étuve à 38°. Ce dernier se trouble déjà au bout de 2 à 4 heures (le bacille typhique se multiplie avec une très grande rapidité) et l'on peut alors *dès que le louche commence à y apparaître très faiblement*, faire subir à ces cultures ainsi reposées, une deuxième et, au besoin une troisième épuration dans le bouillon phéniqué, à la température de 41°.

(c.) Un certain nombre de micro-organismes résistent à l'épreuve précédente. Ce sont, d'une part, le bacille typhique et le *Bac. Coli*

communis,—d'autre part, le *Bacillus mesentericus vulgaris*, un streptocoque fréquent dans l'eau ; enfin quelques *rare*s espèces bacillaires indéterminées qu'on peut différencier très vite du bacille d'Eberth et du *Bacillus Coli* par leurs caractères propres sur tous les autres milieux de culture et par leur réaction vis-à-vis de la méthode de Gram.

Le *Bac. Coli communis* se développe aussi bien que le bacille typhique dans les conditions ci-dessus. On sait, d'une part, qu'il se rapproche par un grand nombre de ses caractères, du bacille de la fièvre typhoïde dont il a même été considéré comme l'ancêtre par Rodet et Roux.* D'autre part, le *Bacillus Coli* est un organisme très abondant dans les selles de l'homme et des animaux et sa constatation dans l'eau offre presque la valeur de celle du bacille d'Eberth car elle démontre la contamination de l'eau par les matières fécales. La présence de ce microorganisme dans les eaux potables offre donc une très grande importance.

Mais les eaux qui recèlent l'agent pathogène de la fièvre typhoïde le doivent, le plus souvent, à leur infection directe ou non par des selles de typhoïdiques. Il en résulte, par conséquent, que presque toujours le *Bact. Coli commune* existe concurremment avec le bacille d'Eberth dans les eaux de boisson ainsi adultérées.

On comprend donc que, si l'on fait l'essai bactériologique de ces eaux, le bouillon phéniqué donne comme nous l'avons observé dans plusieurs examens, et en particulier dans l'eau de Seine,† une culture mixte des deux organismes. Comment les séparer ?

Il suffit simplement de diluer une *ose* du bouillon mixte dans 15 cent. cubes d'eau distillée stérilisée et de faire, avec celle-ci, un certain nombre de cultures sur plaques. Au bout de 4 à 5 jours on observe, sur la gélatine, deux espèces de colonies : les unes opaques, larges, épaisses, à développement rapide ; les autres translucides, nacrées, minces, faiblement élevées au centre, se développant plus lentement. Portées séparément dans le bouillon puis sur les autres milieux en particulier sur la pomme de terre, les premières donnent les réactions de culture du *Bact. Coli commune* ; les deuxièmes présentent les caractères du bacille d'Eberth.

Il va sans dire que la constatation des deux ou d'un des organismes précédents dans une eau de boisson entraîne la condamnation de celle-ci ; mais ce jugement ne pourra être formulé que lorsque les bacilles rencontrés offrent entièrement et rigoureusement tous les caractères morphologiques, toutes les réactions de culture et de coloration du Bacille typhique et du *Bacillus Coli communis*.

* La culture sur pomme de terre et la réaction de l'indol indiquée par Kitasato ne suffisent pas toujours à différencier cet organisme de celui de la fièvre typhoïde, car nous avons rencontré une culture ancienne du bacille d'Escherich qui donnait sur la pomme de terre une couche mince et incolore, et ne présentait pas la réaction de l'indol.

† H. Vincent.—Présence du bacille typhique dans l'eau de Seine. *Ann. de l'Inst. Past.*, Déc. 1891.



Ueber eine ausgebreitete Typhusepidemie in Verbindung mit Trinkwasser.

VON

Prof. JOSEF v. FODOR, Budapest.



Im Spätherbste 1890 brach in *Fünfkirchen* (ungarisch: Pécs, Sopianae der Römer) eine äusserst heftige Typhusepidemie aus, welche in kurzer Zeit die gesammte, 35,000 Seelen zählende Stadt in Schrecken und Trauer versetzte.

Schon in den Sommermonaten zeigten sich sporadische Fälle des Typhus, weil aber in Fünfkirchen Jahr aus Jahr ein und in allen Jahreszeiten einige Fälle dieser Krankheit sich zu zeigen pflegten, wurden diese Erkrankungen nicht beachtet. In der ersten Woche des Novembers häuften sich allmählig die Erkrankungen, in der zweiten Woche hob sich jedoch rapid ihre Zahl, so sehr, dass bis zum 25. November insgesamt 678 Erkrankungsfälle amtlich konstatirt wurden. Schnell fiel jedoch die Zahl; in der nächsten Woche wurden nur noch 64 neue Erkrankungen notirt, dann nur 39, und bald schien die Epidemie beendet; es kamen mehrere Tage hindurch keine neue Fälle zur Anzeige. Trotzdem schlich die Seuche langsam weiter; im Jänner kamen in Durchschnitt täglich je 2 neue Fälle, in der ersten Hälfte von Februar je eine Erkrankung vor,—nun flackerte die Epidemie plötzlich und abermals mit grosser Heftigkeit auf. Vom 17. bis 24. Februar wurden 41, vom 24. Februar bis 3. März jedoch 147, und bis zum 10. März weitere 70 Krankheitsfälle registrirt; in der nächsten Woche kamen aber nur 28, dann 9 neue Fälle zur Anzeige, und allmählig schwand definitiv die Epidemie.

Im Ganzen wurden während der Gesamtdauer der Epidemie 1,228 Erkrankungs- und 93 (= 7·5 ‰) Todesfälle amtlich registrirt.

Ueber die wichtigsten Erscheinungen dieser lehrreichen und ausserordentlich heftigen Epidemie wünsche ich in dem Folgenden eine kurze, vorläufige Mittheilung zu machen.

Aus den officiellen Sterbelisten von Fünfkirchen, sowie aus den Ausweisen des städtischen Hospitals ist zu erschen, dass wenn auch einzelne Typhusfälle in Fünfkirchen zu jeder Zeit beobachtet wurden, so war doch die Stadt seit 23 Jahren von einer ausgesprochenen Typhusepidemie verschont. Allerdings herrschte jedoch der Typhus im Jahre 1865 und 1868 ziemlich heftig. Im städtischen Hospital wurden nämlich in jenen Jahren 124, respective 149 Typhuskranken behandelt, während die Zahl derselben im Jahre 1890 (bis zum 31. Dezember) bloss 112 erreichte.

Die Epidemie von 1890–1 unterschied sich nun in manchen wesentlichen Erscheinungen von den Vorangehenden.

Die öffentliche Meinung beschuldigte diesmal das *Trinkwasser*; von anderer Seite wurde jedoch ein *miasmatischer Ursprung* der

Epidemie behauptet. Ich will auf diese wichtige Fragen eingehen und die Ursachen der Fünfkirchener Epidemie kurz analysiren.

Fünfkirchen liegt auf dem ziemlich steil abfallenden südlichen Abhange des etwa 2,000 Fuss hohen *Meeschberges*. Bloss ein Theil der westlichen und der südlichen Vorstadt zieht sich zur Mulde herunter, welche sich am Fusse des Berges bildet. Das Gebirge selbst wird hauptsächlich durch Muschelkalk und Sandstein gebildet. Der Untergrund der Stadt besteht aus mächtigen Lagern von Lehm, Sand und Gerölle. Dieser Untergrund ist wohl sehr feucht und porös; Grundwasser findet sich jedoeh bloss an jenen Theilen der Stadt vor, welche schon in der Mulde liegen; der grösste Theile der Stadt entbehrt gegrabener Brunnen, und wird von verschiedenen Quellen, welche zumeist oberhalb der Stadt aus dem Muschelkalke entspringen, und seit Jahrhunderten durch mehrere primitive Leitungen der Stadt zugeführt werden, mit Wasser versorgt.

Die Stadt entbehrt einer regelrechter Kanalisation. Allgemein werden Versitzgruben benutzt, die kaum je geleert werden, weil ihr Inhalt sich im Boden versickert. Die Strassen sind eng angelegt; die Hausgründe zumeist klein und dicht bebaut. Die Reinlichkeit lässt Vieles zu wünschen übrig.

Der Sommer 1890 war—ähnlich wie im grössten Theile Ungarns—auch in Fünfkirchen heiss und regenlos. Endlich am 18. Oktober trat ein heftiger Regenguss (37^{mm}) ein, dem an den vier letzten Tagen des Monats ausgiebige Regenfälle folgten. Die Typhuserkrankungen häuften sich nun in der ersten Woche von November, und der plötzliche, explosionsartige Ausbruch erfolgte in der zweiten Woche.

Sowohl die eben geschilderten Boden- und Reinlichkeitsverhältnisse der Stadt, wie auch die ausgiebige Durchfeuchtung des Bodens nach vorhergehender Austrocknung, sind nun zwar sehr geeignet ein miasmatisches Entstehen der Epidemie zu befürworten. Auch das zeitliche Zusammentreffen der Durchfeuchtung des Bodens mit dem Beginn der Ausbreitung der Krankheit spricht für eine miasmatische Entwicklung und Verbreitung des typösen Krankheitsstoffes. Zur Beginning der Epidemie konnte auch diese Auffassung mit vieler Berechtigung behauptet werden. Der spätere Verlauf der Epidemie, wie auch andere Gründe weisen jedoch eine derartige Erklärung der Epidemie mit grosser Entschiedenheit zurück.

Vor Allem lässt sich der zweite explosionsartige Ausbruch der Epidemie im Februar durch miasmatische (Boden-) Einflüsse nicht erklären. Fünfkirchen hatte von Anfang Dezember, wo der erste Ausbruch endete, fortdauernd einen strengen Winter. Die Kälte liess zwar kurz vor dem zweiten Ausbruch auf 1–2 Tage etwas nach, und es begann tagsüber der Schnee an der Oberfläche zu schmelzen, aber bald trat wieder strenge Kälte ein, welche den ganzen zweiten Typhusausbruch überdauerte. Es ist überhaupt kein Factor, weder in den meteorologischen, noch in den Bodenverhältnissen aufzufinden, welcher mit den in so verschiedenen Jahreszeiten (Mitte November und Ende Februar) und unter so verschiedenen meteorologischen Verhältnissen

erfolgten zwei einander vollständig ähnlichen Ausbrüchen der Epidemie im Einklange zu bringen wäre, und welcher das zweite Auflodern der Epidemie im Februar erklären könnte. Dazu wollen wir noch auch das bemerken, dass obwohl der Sommer und Herbst nicht nur in Fünfkirchen, sondern überhaupt in ganz Ungarn heiss und trocken war, trotzdem beim Einbruch der Herbstregen Typhusepidemien im Allgemeinen nicht beobachtet wurden.

Gegen eine miasmatische Ausbreitung spricht ferner der *zeitliche Verlauf* der Epidemie. Die Zahl der Erkrankungen stieg sowohl während des Novemberausbruches, wie auch in Februar steil an, und fiel ebenso rapid ab, während doch miasmatische Einflüsse—und mit ihnen der Verlauf der von derselben beherrschten Epidemien—sich allmählig entwickeln, mit einiger Zähigkeit anhalten, und allmählig zu schwinden pflegen. (Die Typhusepidemien von Fünfkirchen 1865 und 1868 waren von diesem Charakter.)

Auch die *örtliche Ausbreitung* der Epidemie von 1890–1 ist einer miasmatischen Erklärung nicht günstig. Sie war auffallend genau auf die innere Stadt und die östliche Vorstadt beschränkt, während die südliche und die westliche Vorstadt auffallend verschont blieben und nur eine geringe Anzahl—nicht mehr als in anderen Jahren—Typhuskranken aufwiesen.

Viel mehr positive Beweise sprechen—ausser dem bacteriologischen Befund, von welchem weiter unten die Rede sein soll—für eine Ausbreitung der Epidemie mittelst des *Trinkwassers*.

Die Stadt und die Vorstädte werden—wie oben angedeutet von verschiedenen Quellen und durch besondere Leitungen mit Wasser versorgt.

Die innere Stadt und die westliche Vorstadt—das ganze von der Epidemie von 1890–1 heimgesuchte Gebiet—wird von Einer Quelle (die „*Tettye*“) versorgt, welche auf eine Hoehplateau, oberhalb der Stadt, aus Muschelkalk entspringt; die westliche Vorstadt hingegen wird aus mehreren anderen, schwächeren Quellen versorgt, welche oberhalb dieser Vorstadt entspringen und in separaten Leitungen ihr zugeführt werden. Nur ein Theil dieser Vorstadt, wie auch der südlichen Stadttheile schöpfen ihr Wasser aus gegrabenen Brunnen.

Das Publikum war, gleich bei Beginn der Epidemie, auf dieses territoriale Zusammentreffen der Erkrankungen mit der *Tettye*-Leitung aufmerksam, und beschuldigte allgemein dieses Wasser als Ursache der Epidemie. Da ein anderes Wasser nicht wohl zugänglich war, wies die Behörde die Bevölkerung an, das Wasser vor dem Gebrauche zu kochen, was auch ziemlich allgemein, und zwar insbesondere während eines Epidemieausbruches befolgt wurde. Der plötzliche Abfall der Zahl der Erkrankungen wurde nun dem Kochen des Wassers zugeschrieben.

Das Wasser von der *Tettye*-Quelle wird in gebrannten Thonröhren der Stadt zugeführt. In kurzen Entfernungen sind kleine Bassins vorhanden, wo das Wasser frei hineinfließt, und dann in getheilten Röhren weiter geleitet wird. Hierdurch wird auch der Druck der Wassersäule in den Röhren vermindert. Diese Bassins haben ausserdem freie Ausflussöffnungen, wo die Bewohner der umliegenden Häuser ihren

Wasser bedarf schöpfen. Nur in wenige Häuser ist das Wasser direkt hineigeleitet. Die Bassins werden kaum je gereinigt, ebenso die Röhrenleitungen, welche oft ganz oberflächlich (0·4–0·5 Meter tief) liegen, und gegen Verunreinigung von Seite des unliegenden Bodens kaum genügend dicht sind.

An manchen Orten waren an dieser Röhrenleitung arge hygienische Missstösse wahrzunehmen; so z.B. bei dem sogenannten *Czenger-Brunnen* (Bassin zur Wassertheilung, mit Ausfluss, nahe am Beginn des Röhrensystems). Hier durchschreitet die Leitung den ungepflasterten Hof eines schmutzigen Massenquartiers, liegt kaum 0·3–0·4 Meter tief, und befindet sich kaum einige Meter von einer grossen Abortgrube entfernt, welche dazu noch beträchtlich (um 2–2½ Meter) höher liegt, als der Niveau der Leitungsröhre.

Laut einer Zeitungsnotiz soll ferner gleich am Anfange der Leitung eine Röhre aufgefunden worden sein, welche zur Leitung nicht mehr benutzt wurde, jedoch in ein Wasserbassin frei mündete. Diese Röhre wurde *vor kurzer Zeit* mit einer in anderer Richtung verlaufender Leitung ersetzt, viel eben dieselbe ganz oberflächlich unter schmutzigen Höfen Schweinestallungen und sogar an einer Waschanstalt vorüberlief. Man versäumte hierbei jedoch, die alte Leitung von dem Wasserbassin abzusperren. Diese Röhre war nun bei ihrer Blosslegung mit stinkender, jauchiger Masse halb erfüllt.

Diese sanitäre Missstände an der Leitung wurden bekannt, was wesentlich dazu beitrug, dass die Bevölkerung die Ursache der Epidemie in der Unreinlichkeit des Wassers vermuthete.

Im Sommer und im Herbst 1890 war die Tettye-Quelle sehr wasserarm; die Leitungsröhren führten spärliches Wasser. Ende Oktober traten nun die oben beschriebenen Regengüsse ein, die Tettye-Quelle schwellte an, durchschwemmte Röhren und Bassins, und rührte so Bodensatz und Ablagerungen gründlich auf. Kurz darnach brach die bis dahin schleichende Krankheit mit erschreckender Heftigkeit aus, um nach kurzem Herrschen oben so schnell wieder zu verschwinden. Dieses zeitliche Zusammentreffen des Ausbruches der Epidemie mit dem Anschwellen des Tettye-Wassers wurde von der Bevölkerung ebenfalls vermerkt und mit dem Entstehen der Epidemie in Verbindung gebracht.

Wenn nun auch die dargestellten Verhältnisse ziemlich dringend auf ein ursächliches Zusammenhängen der Epidemie mit der Wasserversorgung hinwiesen, so würde es doch gewagt sein, daraufhin schon jenen Zusammenhang als erwiesen zu betrachten. Die *bacteriologische Untersuchung* des Wassers lieferte nun in dieser Beziehung positivere Beweise.

Kurz vor dem Ende des Novemбераusbruches wurden Wasserproben verschiedener Stellen der Leitung entnommen und in mein Laboratorium nach Budapest gesendet. Herr Doent *E. Frank*, welcher die bacteriologische Untersuchung des Wassers übernahm, konnte konstatiren, dass das Wasser, welches an der Quelle geschöpft wurde, ganz arm an Baeterien war (78 Kolonien im Kubikeentimeter Wasser); jenes hingegen, welches dem Auslaufsbrunnen entnommen wurde, ausserordentlich reich an Baeterien gefunden wurde (bis zu 61·747

Kolonien im Kubikeentimeter Wasser). Typhusbacillen konnte Dr. Frank nicht nachweisen.

Im Monate Dezember, während eines andauernden und starken Frostes, untersuchte Dr. Frank abermals das Leitungswasser. Er fand nun nicht nur an der Quelle, sondern auch an den Ausflüssen das Wasser arm an Bacterien. Typhusbacillen konnten auch diesmal nicht nachgewiesen werden. Mitte Jänner erhielt das Wasser noch immer in spärlicher Menge Bacterien. Typhusbacillen waren nicht nachweisbar. Mitte Februar überraschte uns das Wasser durch die enorme Menge der Bacterien. Der Magistrat von Fünfkirchen wurde darauf dringend aufmerksam gemacht. Einige Tage darnach häuften sich plötzlich die Typhusfälle, und die Februarepidemie brach mit erschreckender Vehemenz aus.

Bedauerlicher Weise wurden eben diese Wasserproben—wegen Abreise Frank's—in ungenügendem Maasse auf Typhusbacillen untersucht; doch zeigte sich unter den wenigen, von der Gelatinplatte auf Kartoffel überimpften typhusverdächtigen Kolonien eine Kartoffelkultur, welche alle Anzeichen einer Typhuskultur aufwies. In Abwesenheit Dr. Frank's wurde auch diese Kultur verlegt und einer genaueren Prüfung entzogen.

Ich veranlasste nun, Anfang März meinen Assistenten, Dr. *Czékus*, nach Fünfkirchen zu reisen und neue und ausgedehnte Nachforschungen über das Wasser anzustellen.

Die Methode, welche Dr. *Czékus* befolgte, war—entsprechend unseren Erfahrungen—dass er eine grosse Anzahl Gelatinplatten anlegte, und von diesen alle jene Kolonien sogleich auf Kartoffel verimpfte, welche auf der Platte typhusverdächtig erschienen. Der grösste Theil dieser Kartoffelkulturen erwies sich allerdings als nicht von Typhusbacillen herrührend; viele andere wurden erst bei den weiteren Versuchen als nicht von Typhusbacillen herrührend erkannt und ausgemustert; 5 Kulturen jedoch, wovon 2 aus dem Ausflusse am Franziskaner Platz, und 3 von dem Ausflusse neben der Czengerschen Gebäude herrührten, wiesen alle jene Merkmale auf, die überhaupt für den Typhusbacillus in der Literatur als charakteristisch angegeben werden und als solche acreditirt sind. Zur Kontrolle wurden 4 Typhuskulturen benutzt, wovon eine aus dem Laboratorium des Prof. *Scheuthauer*, eine von Prof. *Pertik* aus Budapest herrührten, eine dritte brachte uns Dr. *Tangl* aus Berlin, die vierte wurde in meinem Laboratorium aus der Milz einer Typhusleiche gezüchtet.

Jene 5 aus Wasser isolirten, sowie die 4 Kartoffelkulturen wurden namentlich folgenden Prüfungen unterworfen * :—

I. Kultur auf Kartoffeln.

(Bei Zimmertemperatur und bei 37° C.)

(a.) Aussehen der Kulturen, und zwar

α. nach 2–3,

β. nach 6–8 Tagen nach der Verimpfung.

* Eine detaillirte Beschreibung dieser Prüfungen halte ich für überflüssig, da dieselben nach bekannten Methoden ausgeführt wurden.

- (b.) Bewegungserscheinungen in hängender Tropfer, und zwar wie oben α und β .
- (c.) Färbbarkeit (α und β).
- (d.) Entfärben nach Gram (α und β).
- (e.) Grösse der Bacillen (in α und in β Kulturen).

II. *Kulturen auf Glycerin-Gelatin.*

- (a.) Aussehen der Strichkulturen, und zwar in α und in β Kulturen.
- (b.) Aussehen der Stiehkulturen (α und β).
- (c.) Bewegungserscheinungen im hängenden Tropfen (α und β).
- (d.) Färbbarkeit,
- (e.) Entfärben der Präparate (α und β).
- (f.) Grösse der Bacillen (α und β).

III. *Kulturen auf Kartoffel-Gelatin.*

- (a.) Aussehen der Stiehkulturen (α und β).

IV. *Kulturen auf Agar-Agar.*

Prüfungen wie II. a, c, d und e).

V. *Indol-Reaction.*

VI. *Verimpfung in sterilisirte Milch.*

VII. *Kultur im Bouillon.*

VIII. *Kultur im gefärbten (mit Methylengrün) Bouillon.*

IX. *Infectionsversuche an Kaninchen.*

X. *Geisselfärbung (Löffler).*

Alle diese Prüfungen und Versuche fielen insoferne positiv aus, als dieselben bei den aus Wasser gezüchteten Bacillen und bei den Original-Typhus-Bacillen ganz gleichlautend sich erwiesen, und auch den in der Literatur verzeichneten Angaben—mit ganz geringer Abweichung von der Angabe *Cassede bats* bei Versuch VIII.—entsprachen.

Zur weiteren Kontrolle liess ich im Monate Mai—als die Epidemie längst erloschen—abermals Wasserproben von Fünfkirchen, namentlich auch von den früher als inficirt erschienenen Ausläufen, kommen, welche ebenfalls von Dr. Czékus mit grösster Umsicht untersucht wurden, diesmal jedoch mit absolut negativem Erfolge.

*Auf diese Ergebnisse hin kann mit so viel Wahrscheinlichkeit, als unser heutiges Wissen überhaupt erlanbt, behauptet werden, dass jene fünf aus der Fünfkirchener Wasserleitung gezüchteten Kulturen aus Typhusbacillen bestanden.**

Wie diese Bacillen in die Leitung gelangen mochten, darüber kann man sich—nach dem oben dargestellten Zustande der Leitung—wohl eine Vorstellung machen. Freilich ist die Art und Weise der Inficirung des Wassers positiv nicht nachzuweisen. Als das wahrscheinlichste

* Kulturen der Fünfkirchner Bacillen überfandte ich Herrn Prof. Löffler, welcher mit dankenswerther Bereitwilligkeit dieselben nachprüfte, und dabei ebenfalls constatiren konnte, den Kulturen—einige ganz unbedeutende abweichungen abgesehen—sich wie echte jene Typhus bacillen verhielten, und auch Prof. Löffler zögerte nicht dieselben als solche zu bezeichnen.

erscheint es mir, dass sowohl im November, durch die vorangehenden Regengüsse, wie im Februar, in Folge der kurz andauernden Schneeschmelze, Faecalmassen von Typhuskranken in die Leitungsröhre,—und zwar ganz nahe an der Quelle, und bevor von der Leitung die separaten Röhren für die innere Stadt und für die östliche Vorstadt abzweigten—zugeschwemmt wurden.

Ich kann nicht umhin auch darauf aufmerksam zu machen, dass der Nachweis von Typhusbacillen im Trinkwasser zu einer Zeit geführt wurde, als die Epidemie schon in voller Abnahme war. Das bacillenführende Wasser wurde nämlich am 9. März geschöpft. In der Woche vom 3. bis 10. März kamen allerdings noch 70 neue Erkrankungsfälle zur Meldung, vom 10. bis 17. März 28; aber in Anbetracht der ziemlich langen Incubationsdauer des Typhus konnten diese Erkrankungen kaum mehr durch das Wasser vom 9. März verursacht sein; in den nächsten Wochen wurden aber 9, respective 4, dann nur noch einzelne neue Fälle beobachtet. Es könnte also auffallend erscheinen, dass trotz des Bacillengehaltes des Wassers die Erkrankungen auch über Mitte März hinaus nicht in grösserer Anzahl vorkamen. Es muss jedoch in Betracht gezogen werden, dass die Bevölkerung durch amtliche Belehrung dazu gedrängt wurde, das Trinkwasser zu kochen, und dieses ohne Zweifel eben während der Dauer der Explosionen am sorgfältigsten ausführte, wodurch die geringe Anzahl neuerer Erkrankungen, trotz Bacillengehalt des Wassers, von Anfang März an wohl zu erklären ist.

Alles in Betracht gezogen, *halte ich es für höchst wahrscheinlich, dass die furchtbare Typhusepidemie von Fünfkirchen, im Jahre 1890-1, durch mit Typhusstoffen inficirtes Trinkwasser verursacht wurde*, und glaube diese Annahme sowohl durch die territoriale Ausbreitung, wie durch den doppelten und explosionsartigen Ausbruch der Krankheit, namentlich aber durch den mit grosser Wahrscheinlichkeit geführten Nachweis von Typhusbacillen im Trinkwasser und deren Mangel in typhusfreien Zeiten, wenn auch nicht mit absoluter Positivität bewiesen, so doch hinlänglich gestützt wird.

In Folge dessen gewinnt diese Epidemie eine hervorragende—wenn auch noch immer nicht eine definitiv entscheidende—Stelle in der Aetiologie der Typhus-Seuchen.

Hierzu schliesse ich noch kurz die Erwähnung an, dass die Stadtgemeinde von Fünfkirchen die ungesäumte Ausführung der seit langem geplanten neuen Wasserleitung beschloss.

Ich kann nach dem Vorgetragenen nicht umhin, mich dagegen zu verwahren, als würde ich in dem inficirten Wasser eine allgemeine, oder auch nur eine oft wiederkehrende Ursache der Typhusepidemien erblicken.

Die Erseheinungen und folgerichtig auch die Ursachen von Typhusepidemien sind viel zu mannigfaltig und complicirt, als dass sie durch eine einfache Trinkwassertheorie kurz abgethan werden könnten.

Die Aetiologie des Abdominaltyphus ist heute noch—trotzdem dass die Discussion derselben seit einiger Zeit zurückgedrängt erscheint—keineswegs eine klare und endgiltig festgestellte. Der—meiner Meinung nach einseitig schroffen—*miasmatischen* Lehre, welche Typhusepidemien

nur in Folge und unter Mitwirkung specifischer Bodeneinflüsse entstehen lässt, steht ebenso schroff und einseitig die *contagiöse* entgegen, welche blos die von den Typhusdejectionem herrührende directe Infection gelten lässt, und den auffallenden Erscheinungen der örtlichen und zeitlichen Disposition achselzuckend gegenüber steht.

Ich habe meine—von den herrschenden zwei Theorien abweichende—Ansicht über die Aetiologie der Typhusepidemien vor mehreren Jahren ausgeführt und begründet.* Ich halte daran heute noch fest.

Wenn ich nun auch eine detaillirte Darstellung dieser meiner Ansichten und eine Discussion der vorerwähnten Theorien im Kongresse, in Anbetracht der Kürze der zur Verfügung stehenden Zeit, als nicht wohl möglich erachte, so wünsche ich doch am Schlusse meines Vortrages meinen Standpunkt bezüglich der Aetiologie der Typhusepidemien wenigstens kurz zu skizziren.

Ich erkenne es an, dass eine, Typhusepidemie auch durch das Trinkwasser allein hervorgebracht werden kann, wenn nämlich auf irgend welche Weise dasselbe durch Typhuskeime inficirt wurde. In viel häufigeren Fällen jedoch übt das Trinkwasser insoferne einen Einfluss auf die Verbreitung von Typhus, als unreine Wässer die Bevölkerung in ihrer Gesundheit (durch Diarrhöen, Dyspepsien u. s. w.) schädigen und auf solche Weise zur Erkrankung an Typhus disponiren.

Die weiteste und ausgebreiteste Rolle in der Typhus-Aetiologie spielt jedoch meines Erachtens der *Schmutz*, die *Unreinlichkeit*, und zwar sowohl im Boden, als auch in den Wohnungen, in der Ernährung, im Trinkwasser, in der Kleidung, in Körper u. s. w.; und zwar einestheils dadurch, dass unreiner und feuchter Boden, feuchter Schmutz in den Wohnungen unter gewissen Verhältnissen zur Conservirung und sogar Züchtung von Typhusbacillen dienen können, anderestheils dadurch, dass Schmutz und in dessen Gefolge Fäulnisorganismen—mögen dieselben von wo immer herrühren, wenn sie nur den menschlichen Organismus dauernd bestürmen—die Widerstandskraft desselben vermindern, und bei einer accidentellen Infection durch Typhuskeime dieselbe der krankmachenden Wirkung dieser Keime preisgeben, und so einer allgemeineren und schnelleren Verbreitung der Krankheit in der Bevölkerung den Weg ebnen.

Die Beobachtung und die Aufklärung dieses Zusammenhanges von *Schmutz und Seuche*, und insbesondere die Frage über das Zusammenkommen der individuellen Disposition zur Krankheit an gewissen Orten und zu gewissen Zeiten, wie auch die Erforschung der Möglichkeit und eventuell der Bedingungen einer miasmatischen Vermehrung der Typhuskeime bleibt sonach, selbst nach völliger Sicherstellung des Einflusses von inficirtem Wasser auf die Verbreitung des Typhus, einer der wichtigsten Aufgaben der experimentellen Hygiene.

* Vergl. Hygienische Untersuchungen über Luft, Boden und Wasser, in ihrer Beziehung zu den epidemischen Krankheiten. Deutsch bei Vieweg u. S. Braunschweig, 1881–82. Ferner: Ueber den Einfluss der Wohnungsverhältnisse auf die Verbreitung von Cholera und Typhus. Deutsch in Archiv f. Hygiene, Bd. II, Heft 3.

[The seven papers originally contributed under the following titles to the Section of Bacteriology have been transferred to SECTION III., and will be found in connection with others dealing with the subject of Rabies, on pp. 22-51, Volume III.]

Études sur la Rage et sur la Vaccination antirabique.

PAR

le Prof. V. BABES, Bucarest.
(*Vide Volume III., p. 22.*)

Ueber die praktischen Erfolge der antirabischen Schutzimpfungen
in Budapest, während des ersten, vom 15. April 1890-
14. April 1891, sich erstreckenden Jahres.

VON

le Prof. Dr. A. HÖGYES, Budapest.
(*Vide Volume III., p. 30.*)

Résultats statistiques de l'Institut antirabique d'Odessa.
(18 Tableaux.)

PAR

le Dr. J. BARDACH, Directeur, Institut Pasteur, Odessa.
(*Vide Volume III., p. 35.*)

Sur le Traitement antirabique de Pasteur

PAR

le Dr. BORDONI-UFFREDUZZI, Directeur, Institut Antirabique, Turin.
(*Vide Volume III., p. 42.*)

Les Résultats des Vaccinations antirabiques à St. Pétersbourg
depuis le 1-13 Juillet 1886 au 1-13 Janvier 1891.

PAR

le Dr. V. KRAÏOUSHKINE, Chef de la Section antirabique de l'Institut
Pasteur, St. Pétersbourg.
(*Vide Volume III., p. 46.*)

Résultats statistiques de l' Institut antirabique de Tiflis.

PAR

le Dr. T. FINKELSTEIN, Tiflis.

(*Vide Volume III., p. 47.*)

Les Résultats des Vaccinations Antirabiques obtenus à Varsovie.

PAR

le Dr. O. BUJWID, Warsaw.

(*Vide Volume III., p. 51.*)

The Hygienic Value of the Bacteriological Examination of Water.

BY

PERCY F. FRANKLAND, Ph.D., B.Sc. (Lond.), F.R.S., Professor of
Chemistry in St. Andrew's University, Dundee.

The method of gelatine-plate culture, devised by Koch, has probably served more than anything else in securing the large amount of accurate information concerning bacteria which has been accumulated by numerous investigators during the past eight years. One of the principal sanitary applications of this method has been to the examination of drinking-water, and it is now in use in almost every part of the world. As to the value of such a bacteriological examination of drinking-water, however, there are still very wide differences of opinion.

At first it was supposed that the number of colonies obtained from a given volume of water would at once throw light upon its purity, and certain arbitrary standards were hastily set up on a most limited experience. These standards were soon found to be quite impracticable, and to lead to the most contradictory and irrational judgments. I believe that these standards have been altogether abandoned, but I, personally, never countenanced them from the outset, and have never pronounced a water "good," "bad," or "indifferent," from the number of colonies which a given volume was found to yield. The valuelessness of the mere numerical results is principally due to the enormous multiplication which some microbes are capable of even in the purest waters, including distilled water itself. To this power of multiplication, I first drew attention in 1885, in a paper read before the Royal Society, ("On the Removal of Micro-organisms from Water."—*Proc. Roy. Soc.*, 1885, 387); and, again, in 1886, ("On the Multiplication of Micro-organisms."—*Proc. Roy. Soc.*, 1886, 526), whilst the subject has also been dealt with by Leoni, Wolffhügel, Meade, Bolton, and others. In consequence of this

property, the purest waters may contain enormous numbers of micro-organisms, provided that the opportunity for such multiplication has occurred. Thus, in the case of well-waters of the very highest purity, the organisms found may be exceedingly numerous if pumping has been in abeyance for some time. It is, therefore, high time that it should be publicly recognised that the numerical results obtained in the bacteriological examination of water are in themselves quite worthless as an indication of the fitness or otherwise of a water for drinking purposes.

But let it be clearly understood that the bacteriological examination of water is not on that account worthless; on the contrary, it is of the highest value and importance for the determination of the efficiency of processes of purification, both natural and artificial; indeed, it is only by the proper use of the bacteriological method that the hygienic value of such processes can be ascertained. It is for such purposes and for such only, that I have myself used the bacteriological method of water examination for nearly seven years past. In applying the method with this object in view, it is, of course, essential that the disturbing factor of possible multiplication should be rigidly excluded; thus, in investigating the efficiency of the filtration to which water is subjected in gaining access to a well, it is necessary that the latter should have been continuously pumped for hours in order to insure that the water examined should have come direct from the water-bearing stratum, and not have undergone stagnation in the well. In this connexion I may cite the results I have recently obtained in the bacteriological examination of the 11 deep wells in the chalk belonging to the Kent Waterworks Company, which are so well-known to yield water of almost unrivalled purity that they are frequently resorted to as the standard of what deep-well water should be. In all cases the samples were taken directly from the pumps which had been in action for many hours previously:—

Name of Well.						Number of Colonies obtained from one cubic centimètre of Water.
Deptford	{ " Garden " Well	-	-	-	-	16
	{ " New " "	-	-	-	-	13
	{ " Bath " "	-	-	-	-	4
Plumstead	-	-	-	-	-	76
Orpington	{ No. 1 Well	-	-	-	-	11
	{ No. 2 " -	-	-	-	-	21
Shortlands	{ No. 1 Well	-	-	-	-	44
	{ No. 2 " "	-	-	-	-	54
Wilmington	-	-	-	-	-	21
Crayford	{ No. 2 Well -	-	-	-	-	18
	{ No. 3 " -	-	-	-	-	74

By employing the method for such purposes, we have learnt how to distinguish between what is useful and what is useless, or even prejudicial, in the practice of what may be called *pure water engineering*. Thus, in the year 1886, I called the attention of engineers to the almost uniform differences in the efficiency of the sand filtration practised by the several London Water Companies drawing from the Thames and the Lea, indicating the points of variation to which these differences were attributable :—(“ Water Purification : its Biological and Chemical Basis ” ; Institution of Civil Engineers, 1886).

In this paper, and in my monthly Reports to the Local Government Board on the bacteriological examination of the London waters, as well as in other publications, I pointed out that the process of sand-filtration as practised on the large scale, removed a large proportion (generally upwards of 90 per cent.) of the microbes present in the unfiltered water ; but that the results achieved by the several Companies operating upon practically the same raw material, unfiltered Thames water drawn at Hampton, exhibited comparatively regular differences, which I referred to the following factors in their mode of manipulation :—

- (1.) Storage capacity for unfiltered water.
- (2.) Thickness of fine sand through which filtration is carried on.
- (3.) Rate of filtration.
- (4.) Renewal of filters.

The attitude which I took in this matter was entirely opposed to that assumed by German investigators, who did not hesitate to endow these ordinary sand-filters with the almost miraculous *power of arresting all micro-organisms in the unfiltered water*, attributing the presence of the microbes actually found in the filtered water to post-filtration sources. I am glad to see, that by the more recent investigations of Fraenkl and Piefke, (“ Filteranlagen für städtische Wasserleitungen ” ; Brunswick, 1890) this highly improbable interpretation of the filtration-phenomena has been overthrown, and my previous conclusions and deductions completely confirmed.

It is frequently urged in some quarters that the ideal object of the bacteriological examination of water is to discover whether or not pathogenic forms are present. Now, although such an inquiry may occasionally be of great importance, it cannot be sufficiently emphasised that, as a general rule, it is wholly irrelevant to the purposes of water examination. Under ordinary circumstances, potable waters are submitted to experts for examination with a view to the determination of whether or not they can be used with safety for domestic purposes. Is the answer to this question to depend upon whether pathogenic forms are discoverable or not ? Surely the object of the water examiner is primarily to ascertain whether the water is subjected to influences which may at any time lead to the introduction of pathogenic forms, and only secondarily to whether there are pathogenic forms present at the moment of the examination. In other words, the first object of the examiner is to find out whether the water is contaminated with sewage, and not whether the particular sewage contained pathogenic forms or

not. The modifications introduced into the ordinary method of examination which have led to the occasional discovery of the typhoid bacilli in drinking water are of great importance as having thrown light upon the manner in which typhoid can be conveyed by water; but they ordinarily find no application in the case of inquiries made for the purpose of adjudicating upon the fitness of water supplies for domestic purposes. The real future of the bacteriological method lies in the possible discovery and easy recognition of micro-organisms absolutely characteristic of sewage, irrespectively of their pathogenic character. It is because the bacteriological method, in its present state of development, is of little or no assistance to us in this discovery of sewage contamination that our opinion as to the presence or absence of such matters in potable water must still hinge upon its careful chemical analysis, combined with a searching inspection of the environment of its source. On the other hand, in determining the hygienic value of purification processes, the bacteriological method in its present form is, as already indicated not only of paramount importance, but, indeed, the only referee.

The Bacteriological Examination of Drinking Water, with special reference to the Dublin Water-Supply.

BY

EDMOND J. MCWEENEX, M.A., M.D. (Royal University of Ireland);
Lecturer on Pathology, Catholic University School of Medicine,
Dublin; Examiner in Pathology, Royal University of
Ireland; Pathologist to the Mater Misericordiae
Hospital, Dublin.

The bacteriological examination of drinking water is one of the latest developments of hygienic science, and no well-instructed hygienist now doubts its importance. Sometimes we can directly demonstrate by this means the presence in the water of pathogenic microbes. This, for various reasons, into which I will not at present enter, is a rare occurrence. But the bacteriological examination affords a useful index to the character of the water, especially when we conduct our investigations in accordance with the views of Migula,* and seek to determine, not merely the number of the bacteria present, but also to how many, and to which, species they belong. Large numbers of liquefying organisms, belonging to species well recognised as putrefactive, should make us suspect contamination with decomposing organic matter, and the consequent possibility of infection at any moment with virulent disease germs, even though none such be present at the time of examination. Such examination should, in my opinion, be carried out for a given

* Central bl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. viii., p. 353 seq.

locality so far as possible by the same individual; for it is only after a considerable experience in this sort of work that one is able to recognise quickly and accurately the species commonly occurring, and to detect with certainty the presence of an intrusive, mayhap a pathogenic, organism.

Other points which the bacteriological hygienist ought to set himself to determine are the influence of the much employed sand-filtration on the numbers of the bacteria contained in the water subjected to the process; the influence of the state of the filter, whether cleansed or the reverse, on the bacterial contents of the water; the effect of filtration in removing from water substances capable of supporting bacterial life; the best and surest method of establishing the presence of pathogenic microbes in water. These, and similar points, ought to be worked out by a competent investigator for the water-supply of every town and district in the United Kingdom, and I shall endeavour to illustrate them in the following pages, which have special reference to the Dublin water-supply.

The city of Dublin is supplied with water from the river Vartry, which rises on the plateau of Calary, near the "Sugarloaf" mountain, about 15 miles south of Dublin, and pursues a southerly course, falling into the sea at Wicklow, 28 miles from the city. The geological character of the district drained by the Vartry is mainly Cambrian. Near the village of Roundwood the stream flows through a spacious and shallow valley, and is here dammed up by an artificial embankment of great thickness so as to form a lake $2\frac{1}{2}$ miles long, by half-a-mile wide, and 60 feet deep. From near the bottom of this lake the water is led into a number of filter-beds composed of layers of broken stone and sand, after traversing which from below upwards, it is conducted through a tunnel $2\frac{1}{2}$ miles long under Callow Hill, to the commencement of a series of iron pipes, by which it is conveyed to a large reservoir at Stillorgan, 5 miles from the city. Here it is subjected to a process of "screening." From this reservoir the immediate supply of the city is derived. The total average distance between the points of collection and distribution is 24 English miles, of which it is exposed to the air for a fraction of a mile only, the rest of the distance being accomplished either in the tunnel or the pipes.

For the purposes of this paper, I subjected to bacteriological analysis specimens from—

- (a) the supply basins to filter-beds 1 and 4;
- (b) the exit-basins from the same filter-beds;
- (c) the water issuing from the tunnel under Callow Hill;
- (d) the domestic supply taps in the city.

I also examined the water of the Stillorgan reservoir, but the results are not sufficiently complete as yet to be of any value, so I will leave them for the present out of consideration.

Out of the nine filter-beds at Roundwood, I selected Nos. 1 and 4 for examination, because No. 1 had been recently subjected to a thorough cleansing, while No. 4, which had been in use for many years, had been but once cleansed, and that in its superficial strata only.

I selected for examination the water at the exit of the tunnel, on account of the suspicion that water from the surrounding earth percolates through the tunnel wall and mingles with the regular filtered supply.

The *modus operandi* for isolating the species was the usual Koch plate cultivation method with 10 per cent. nutrient gelatine as substratum. For pure cultures I used the same gelatinised medium inoculated by *thrust* or *stroke*; also potatoes and Soyka's milk-rice medium, and occasionally agar-agar, and discontinuously-sterilised and coagulated hydrocele fluid. I also made constant use of bouillon.

In many, though not in all, cases, I endeavoured to check the results of the plates, which, of course, could only be poured in the laboratory by making cultures in v. Esmarch's *Doppel-schalen* at the time the samples were taken. For the future I purpose employing Petruschky's flat culture-bottles;* but they were not available when I was making the examinations now detailed.

The number of bacteria which developed under these circumstances from the *unfiltered* water varied within very wide limits indeed, between 120 and 4,070 germs to the cc.; the average lying much nearer to the smaller than to the larger number, however.

The *filtered* water was found to differ widely in quality (from the bacteriological standpoint) according to whether it had passed through filter No. 1 or filter No. 4.

In the former case the number of germs was almost invariably diminished, in the latter increased, sometimes greatly so. The average of a number of experiments gave 72 germs per cc. of the water which had been filtered through bed No. 1, and about 5,000 per cc. or that which had passed through No. 4. As throwing light upon the remarkable circumstance revealed by this examination, I may cite Poehl's view,† that (from the bacteriological standpoint) soft water is only soiled by sand filtration.

While working at this part of the subject it occurred to me that it might be well to endeavour to throw a little light upon a point of technique, and I may perhaps be permitted to digress for a moment in view of the importance of the matter in question.

When water has to be transported for bacteriological examination, it is usually carried either in sterilised plugged Erlemeyer's flasks or else in stoppered bottles, and I wished to contrast these two classes of receptacles, taking the ratio of bacterial multiplication in a given time as the criterion. The Erlemeyer's flasks which I used were of about 100 cc., and were plugged with wool and sterilised as usual in the hot air apparatus at about 180° C. The bottles were capable of holding about 250 cc., and were provided with a ground stopper fitting accurately and closing air-tight. They were sterilised with a .2 per cent. solution of corrosive sublimate, with which they were filled and allowed to stand in the laboratory for several days before use. The last traces of the sublimate

* Centralhl. f. Bakt. u. Parasitenk., viii, p. 609 seq.

† Tagebl. d. 60ten Versamml. Deutschen Naturf. u. Aertzte in Wiesbaden, 1887, p. 347.

were got rid of by thorough rinsing with the water to be examined, and special care was taken to prevent any of the disinfectant from adhering to the stopper. Both the Erlemeyer's flasks and the bottles were filled by immersion, the former only two-thirds full as it was desirable to prevent contact of the contained water with the plug; the latter were quite filled so that as little air as possible remained between the stopper and the surface of the water in the neck. Coming now to the result of the examination, I do not intend to enter into a discussion of the figures; as was to be expected, I found that after about 24 hours the number of germs in the water of the Erlemeyer's flasks had undergone a very marked increase, while that in the bottles had increased but slightly, sometimes not at all.

With regard to the effect of filtration in removing substances upon which bacterial life is nourished, I found that a specimen of unfiltered water which 24 hours after collection contained about 4,100 germs to the cc. was found to contain 44,800 per cc. at the end of a month spent in a sterilised and plugged Erlemeyer; while a specimen similar in amount and similarly preserved, which had yielded 12,000 germs per cc. 24 hours after filtration (through No. 4) gave only 18,480 to the cc. after a similar lapse of time. Parallel results were obtained with water filtered through No. 1. The experiment with No. 4 would seem to show the remarkable fact that germs may actually be added to water in passing through a filter, and yet the germ-nourishing substances contained in the filter may be diminished. I may add before leaving the subject, that I never found either the enormously rapid multiplication (to 2,310,000 germs per cc. after 36-57 hours), nor the extreme diminution (down to two germs per cc. after 45 days) recorded by Dupont.*

Coming now to the water flowing from the tunnel under Callow Hill, I found it contained an unusually large number of liquefying germs on the one occasion when I examined it. The plates I made were liquefied with astonishing rapidity and completeness, so that I was unable to observe the exact number of colonies and to make the usual sub-cultures. I hope subsequently to make good this deficiency, and will for the present content myself with pointing out that the experiment confirms the supposition of the city engineer, Mr. Harty, that water percolates through the walls of the tunnel—though why this intrusive water should be so charged with germs I do not know.

Lastly, with regard to the domestic water-supply, I found as the result of a great number of examinations that the number of germs contained in a cc. varies from 20 to 50. The average is somewhere about 40. The smallness of this number when compared with that in the water issuing from the uncleansed filters and from the tunnel, is very striking, and calls for some explanation. Breuing,† who found a similar decrease in the pipe water as distinguished from the reservoir water of Kiel,

* Over microscopisch Drinkwateronderzoek en over de verkregen resultaten gedurende het jaar 1887. Rapport intjebrecht an de openbare Gezondheidscommissie van Rotterdam.

† Inaug. Dissert., Kiel, 1888.

accounts for it on the ground of the exclusion of air from the pipes, in which the water has to remain for a certain length of time before it escapes from the supply taps. A similar phenomenon is accounted for by Frank* on a sedimentation hypothesis, which might be resorted to here also, for in the Stillorgau reservoir the water has abundant opportunity to deposit any solid particles that may be floating in it. Lastly, it has occurred to me that the thick, slimy, brown coating which covers the inner surface of the iron pipes, and seriously diminishes their calibre, as Mr. Harty informs me, may possibly exercise a destructive action upon the vitality of the organisms in the water. The growth is itself probably a bacterial product due to the species of leptothrix described as iron bacteria by Winogradsky.†

This concludes my enumeration work on the Vartry water. A large and flourishing suburb of Dublin, Rathmines, derives its water from another source, the River Dodder which rises in the extreme S.W. part of Dublin County and flows into the Liffey at its mouth. The Glenasmole valley, whence the Rathmines supply is obtained, is in a limestone district, and its slopes are covered with recent peat. The pipe-distance traversed by the water is about 5 miles. Here I was obliged to confine myself to an examination of the domestic tap-water, and the average results I obtained were 206 colonies per cc., a result which shows that although the Rathmines water is not nearly so good from the bacteriological standpoint as that of the metropolis, its germ content is nevertheless well within the limits laid down by Plagge and Proskauer.‡

Hitherto I have confined my remarks exclusively to germ enumeration, which according to the best authorities (Migula, *vide supra*)§ yields but imperfect results. I have, therefore, determined to ascertain the specific characters of the organisms which occurred. For this purpose I utilised the well-known works of Eisenberg,|| Maschek,¶ Adametz,** and the Franklands,†† but most of all O. E. R. Zimmermann's‡‡ account of the bacteria of the Chemnitz water, and Professor Lustig's "Diagnostica dei Batteri delle Acque."§§ Up to the present I have isolated 26 species of bacteria from the Dublin water. I do not propose in the present paper to enter into a description of each, partly because I have not

* Zeitschr. f. Hygiene, Bd. III., 1887, Heft. 3, p. 355.

† Botan. Zeitug., 1888, p. 261.

‡ Zeitsch. f. Hyg. Bd. II., 1887, Heft 3, p. 401.

§ Migula l. c.

|| "Bakteriologische Diagnostik, &c." 2nd edition (a third has since appeared). Hamburg and Leipzig. Voss, 1888.

¶ "Bakt. Untersuch der Leitmeritzer Trinkwässer" (in the "Jahresbericht der Kommunal-Oberrealschule in Leitmeritz für 1887").

** "Die Bakterien der Trink-und-nutzwässer," (a reprint from "Die Mittheilungen der Versuchsstation f. Branerei u. Malzerei in Wien." 1888).

†† Zeitschr. f. Hygiene. Bd. VI., Heft. 3, p. 379 seq.

‡‡ Chemnitz, Brunner, 1890.

§§ Turin, Rosenberg and Sellier, 1890.

studied their characters with sufficient completeness for any description that I could give at present to be of real service to subsequent observers, and partly because I feel now that those I have isolated are far from being all that are present. I will make their description the subject of a separate paper. In the meantime I may mention the species the identification of which I look upon as certain :—

1. *Gasbildender Bacillus* (Eisenberg).
2. *Verflüssigender Bacillus* (Eisenberg).
3. *Proteus vulgaris* (Hauser).
4. *B. punctatus* (Zimmermann).
5. *B. ochraceus* (Zimmermann).
6. *B. implexus* (Zimmermann).
7. *Typhusähnlicher B.* (Weiehsebaum).
8. *B. mesentericus vulgatus* (Flügge).
9. *B. mycoides* (Flügge).
10. *B. fluorescens tenuis* (Zimmermann).
11. $\left\{ \begin{array}{l} B. fluorescens liquefaciens \text{ (Flügge).} \\ B. viscosus \text{ (Frankland).} \end{array} \right.$
12. *Micrococcus crinoides* (Zimmermann); and
13. *Saccharomyces roseus*.

In spite of a good deal of trouble, I have not yet succeeded in establishing to my own satisfaction the identity of the remaining 13 or 14 species with species previously described.

As regards their distribution, the first eight and No. 11 were found both in the tap water and that of the reservoir. The others, together with the kinds hitherto unnamed, I have hitherto found only in reservoir water. I was able to confirm Th. Smith's observation* that the smaller the total number of species in a given sample the larger is the proportion of liquefying species; and could even go further than he does, for in the Rathmines water, which contains a relatively large number of germs (206 to the cc.) belonging however to two or three species only, every one of the species was liquefying. The value of this observation is detracted from by the fact that the presence on a plate of a number of liquefying colonies means its destruction before many of the non-liquefying and more slowly growing colonies have developed; unless, indeed, recourse is had to the carbolic acid method of Chantemesse and Widal.† Still, it has seemed to me worth recording. The bacteria present in the Rathmines water were *B. punctatus* (Z.), *Gasbildender B.* (Eisenb.), both of which seem to me to stand very close to Hauser's *proteus vulgaris* and Frankland's *B. viscosus* (=Flügge's *fluorescens liquefaciens*). In other words, they were putrefactive organisms, and I lay stress upon this point, because I here arrived at a different result from that of Migula (loc. cit.) who holds that putrefactive organisms only make their appearance when a large number of species is present in

* "Quantitative variations in the germ-life of Potomac water." Medical News, 1887.

† Arch. de phys. norm. et path., 1887. No. 2, p. 217.

the water. Migula's observation is founded, however, upon a much larger experience than mine, and may, perhaps, prove to be more in accordance with facts. In the meantime I have thought it only right that I should draw attention to the discrepancy.

With regard to the persistence of the different species in water which had been kept for a month, I found that however varied the appearance of the original plates, they presented at the end of the time a strikingly uniform aspect, being thickly studded with small colonies, of which two belonged to rapidly liquefying species, *Proteus vulgaris* and *B. fluorescens liquefaciens*, and the other two (there were only four kinds) were small non-liquefying lobulated-looking, brown colonies which I have not yet identified.

Turning now to the *pathogenicity* question, I thought it vain to experiment with pure cultures, being convinced that many virulent organisms rapidly become innocuous on our artificial substrata, and accordingly I had recourse to the method practised by Victor C. Vaughan,* who introduces a drop of the water under examination into a tube containing five or six cc. of sterile bouillon, and after incubating it at 35°–37° C. for 24 hours, experiments with 20 drops of the resulting liquid. I incubated it for 48 hours usually, and introduced .5 cc. into rabbits and guinea-pigs intra-peritoneally. In no case did any constitutional disturbance result. In another series of experiments, conducted with a somewhat different object in view, I obtained a positive result. The object was to ascertain whether any of the species could develop anærobically in a highly nutritive substratum, and at an elevated temperature. With this view I introduced a minute quantity of pure culture into the interior of a fresh egg (hen's) which had previously been well shaken, and had had the shell sterilised by immersion in .2 per cent. sublimate solution. An aperture was made in the shell, the subjacent membrane was pierced with a glowing needle, and the charged inoculation instrument was rapidly introduced, moved about for a moment, and withdrawn; whereupon, the aperture was closed with collodion, and the egg placed in the incubator. Control eggs were similarly treated, save that the inoculating needle was sterile. These always remained unaltered. The only species which I have hitherto found capable of thriving in this way are the *gasbildender bacillus*, *B. punctatus*, and *Proteus vulgaris*. Eggs inoculated with pure cultures of these species were found in a few days to contain a thin yellowish or brownish fluid, which gave off a highly unpleasant odour, and which swarmed with the actively mobile organisms. A rabbit, into the peritoneum of which .5 c.c. of this fluid derived from an egg inoculated with *B. punctatus* was introduced, died at the end of 36 hours, and the autopsy revealed acute peritonitis. The spleen did not seem enlarged, and the heart's-blood was coagulated. I made cultures from the spleen and heart's blood, and preserved the organs in alcohol. Pending the result of these examinations, I cannot say whether death was due to infection or intoxication, but think the latter much more probable. I

* "Philadelphia Medical News," 1890, p. 641.

need hardly say that the result of such an experiment in no way leads me to conclude that *B. punctatus* as found in the Dublin drinking water is a pathogenic organism. Rabbits inoculated with similarly prepared egg-fluid from the *gasbildender Bacillus* and *Proteus vulgaris*, exhibited shivering and loss of appetite, but did not die. Contrary to Eisenberg's assertion, I find that his *gasbildender Bacillus* succeeds well at body temperature, at least, in eggs and bouillon.

I have now finished the preliminary account of investigations on the Dublin water-supply, from the bacteriological standpoint. The subject is one the ramifications of which lead one far afield. My best thanks are due to the Waterworks Committee of the Dublin Corporation, to their courteous secretary, Mr. Lalor, and to the Rathmines Commissioners, for so kindly facilitating the work I had undertaken; and I must, in a special manner, acknowledge the assistance, advice, and information I received from the City Engineer, Spence Harty, Esq., C.E., and his equally courteous subordinate, Mr. Andrews, C.E. Were it not for the help afforded me by these gentlemen, this paper would never have been written. The facts I have arrived at may seem unimportant, unpractical, and devoid of interest, save, perhaps, from the botanical point of view. But, in hygiene, as in other subjects, it is not possible to draw generally useful conclusions, until large bodies of facts have first been accumulated. Every stone laid on the cairn of knowledge thus becomes, in a measure, valuable, and this consideration has been the *raison d'être* of the present paper.

Mittheilungen über Versuche mit dem Dr. Nordtmeyer-Berkefeld'schen Kieselguhr-Filter.

VON

Dr. PROCHNIK, Militärarzt der Königl. Niederländisch-Ostindischen Armee.

Die zahlreichen Erfindungen auf dem Gebiete der Wasserfiltration haben bis vor Kurzem keine Resultate geliefert, die den Hauptbedingungen eines guten und brauchbaren Filters vollkommen entsprechen.

Unter diesen Bedingungen meine ich in erster Reihe Keimundurehlässigkeit und quantitative Leistungsfähigkeit.

Die meisten Filterapparate liefern kein keimfreies Wasser. Das mit Recht bisher als das beste angesehene Filter von Pasteur-Chamberland liefert zwar keimfreies Wasser. Eine solche Kerze, die ich im Wiener hygienischen Institute prüfte, filtrirte bei ununterbrochenem Betriebe sogar durch 23 Tage vollkommen steriles Wasser. Aber die quantitative Leistung dieser Apparate ist sehr gering. So betrug bei meinem Versuche die Leistung in 27 Tagen bei einem Drucke von ungefähr 4 Atmosphären im Ganzen 2466 Liter und

zwar in der ersten Stunde 1 Liter in 6 Minuten und 15 Sekunden, und am Ende des 27ten Tages 1 Liter in 27 Minuten und 30 Sekunden, letzteres eine Leistungsfähigkeit, die für praktische Zwecke gewiss nicht mehr in Betracht kommt.

Die Publicationen von Dr. Nordtmeyer und Dr. Bitter über das Nordtmeyer-Berkefeld'sche Filter—Zeitschrift für Hygiene, 10. Band, 1. Heft—waren gewiss angethan, das Interesse der Hygieniker in hohem Grade zu erregen, und Herr Professor Gruber veranlasste mich Versuche mit genanntem Filter im hygienischen Institute der Universität Wien auszuführen.

Bezüglich der Construction dieses Filters erlaube ich mir, der Kürze halber, mich auf die früher genannte Nordtmeyer'sche Publication zu berufen; es eirculiren unter den Herren gedruckte mit Zeichnungen versehene Beschreibungen; überdies sind die Filter auf dem Congresse ausgestellt.

Um meine Ausführungen bezüglich der Versuche besser verständlich zu machen, sehe ich mich dennoch gezwungen einige wesentliche Punkte der Beschreibung zu berühren.

Die Filtrirapparate zerfallen in 2 Sorten, welche von der Fabrik als Filter H und M bezeichnet sind.

Beide bestehen aus einem gusseisernen innen weiss emailirten Cylinder von einem Inhalte von ungefähr 1 Liter und der Kieselguhrzelle.

Der Cylinder hat ein Zu- und ein Abflussrohr und einen durch Flügelschrauben verschliessbaren Deckel, der im Centrum eine kleine Oeffnung hat, durch welche das Abflussrohr der Zelle durchgesteckt wird.

Die aus Kieselguhr bestehende Zelle wird in den Cylinder luftdicht eingesetzt. Die Filtration geschieht von aussen nach innen.

Die Zellen des Filters H müssen, um gereinigt zu werden, aus dem Apparate herausgenommen werden, während beim Filter M dieses nicht zu geschehen braucht, da sich zwischen Cylinder und Zelle eine Bürste befindet, durch welche die Zelle im Apparate selbst gereinigt werden kann.

Ein mehrmaliges Herumdrehen einer am unteren Ende des Cylinders sich befindenden Kurbel genügt, um die Aussenwand der Zelle von dem anhaftenden Schlamm oder sonstige Verunreinigungen durch Abbürsten zu befreien.

Die ziemlich weiche Consistenz der Zellensubstanz, i.e. des Kieselguhrs, ihre sehr grosse Porosität bei sehr kleiner Porengrösse, sind die Umstände, welche die Vorzüge dieses Filters in quantativer und qualitativer Hinsicht bewirken.

Wegen der Feinheit der Poren scheint das Eindringen organisirter und nichtorganisirter in der zu filtrirenden Flüssigkeit suspendirter Verunreinigungen nur in die oberflächliche Schichten ermöglicht zu sein, und das sich diese schon durch das Reiben mit einer weichen Bürste leicht entfernen lassen, kann eine gute qualitative und quantitative Leistungsfähigkeit lange bewahrt werden, was sich bei den Versuchen von Dr. Nordtmeyer wie bei den meinigen manifestirt hat.

Die Filterzellen werden mit Bezug auf ihre Dichtigkeit in 3 Sorten hergestellt, und zwar dichte, lockere und poröse, die letzteren nach Dr. Nordtmeyer, mit einem Porenvolum von 65·7 Procent.

Ich habe beide Filterapparate und zwar H und M verwendet, und in Ersterem 6, in letzteren 1 Zelle untersucht—sämmliche 7 Zellen waren von poröser Sorte. Der Orientirung wegen bezeichne ich die Zellen vom Filter H mit No. 1 bis No. 6, die vom Filter M mit No. 7.

Die Zellen des Filters H sind Cylinder von 26 Centimeter Länge, 5 Centimeter äusserem Durchmesser, 1 Centimeter Wandstärke und 380 Quadratcentimeter Filterfläche wurden jedes Mal vor dem Einsetzen in den Cylinder in kochendem Wasser sterilisirt.

Durehfiltrirt wurde Wiener Hoehquellwasser, dessen Keimgehalt während der Zeit des Versuehes zwischen 100–500 Keimen per Kubikeentimeter schwankte, und sehr dichte Aufschwemmungen von *Prodigiosus*.

Wo ich nichts Ausdrückliches erwähne, wurde bei einen Drucke von einer Atmosphäre filtrirt, was bei den meisten Versuehen stattgefunden hat.

Sie werden aber auch von einigen Versuehen hören, bei denen mit vollem Hoehquellwasser-Drucke, der im Institute auf $3\frac{1}{2}$ –4 Atmosphären sich stellt, vorgenommen wurden.

Die Temperatur des Hoehquellwassers variirte zwischen 9 und 12° C.

Durehgehends wurden die Aussaaten auf Fleischwasser-Pepton-Gelatine gemacht und grösstentheils in Petri'sehen Schalen ausgegossen, seltener habe von Platten, Liepez-Flaschen oder Rollröhren Gebrauch gemacht. Jede Aussaat wurde mit 1 Kubikeentimeter Filtrat gemacht.

Die Dauer, in der die Zellen im Apparat H zu Anfang eines Versuehes einen Liter Filtrat lieferten, lag zwischen 35 und 51 Sekunden, nur Zelle No. 6 lieferte einen Liter in 20 Sekunden; es erwies sich aber, wie später besprochen werden wird, dass diese Zelle stark keimdurehlässig war.

Die Abnahme der soeben besprochenen Anfangsleistung erfolgte bei längerem und ununterbrochenem Filtriren nur sehr langsam und ziemlich gleichmässig.

Ein Abbürsten der Zelle, wenn sie auch in längerem Gebrauche gewesen war, stellte die Anfangsleistungsfähigkeit mit einer allmählig zunehmenden, jedoch jedes Mal nur unbedeutenden Verminderung, wieder her.

Eingehendere diesbezügliche Versuehe habe ich mit Zelle No. 1 vorgenommen und lasse hier die Ergebnisse folgen.

Sie wurde am 30. Mai Mittags in Gebrauch genommen mit einer Anfangsleistung von 1 Liter in 42 Sekunden.

Die Messung am 2. Juni Mittags also nach 3×24 Stunden ergab 1 Liter in 1 Minute und 45 Sekunden.

Am 4. Juni Mittags, also nach 5×24 Stunden ununterbrochenen Filtrirens, lieferte die Zelle vor dem Abbürsten 1 Liter in 3 Minuten

und 15 Sekunden. Nach dem Abbürsten betrug die Leistung 1 Liter in 54 Sekunden.

Am 8. Juni vor dem Abbürsten 1 Liter in 3 Minuten 42 Sekunden, und nach dem Abbürsten 1 Liter in 57 Sekunden.

Der Versuch mit dieser Zelle wurde am 9. Mittags abgeschlossen, sie lieferte zu der Zeit 1 Liter in 1 Minute 35 Sekunden.

Man ersieht aus diesen Zahlen, wie gering die Abnahme der quantitativen Leistung dieser Zelle bei ununterbrochener Filtration war und die noch geringere Einbusse der Leistungsfähigkeit nach 3 maligem Abbürsten.

Ich erlaube mir auch noch, die ganz respectable Gesamtleistung dieser Zelle in Zahlen vor Augen zu bringen, sie betrug in 9×24 Stunden 8723 Liter Filtrat oder ungefähr 1 Kubikmeter pro die.

Ich habe diese Zelle zum Behufe von qualitativen Versuchen später des Oefteren noch gebraucht und sie auch daher noch mehrere Male gebürstet; ausserdem nebenbei bemerkt sie 14 Male durch Kochen sterilisirt, wobei sie beim letzten Versuche mit $3\frac{1}{4}$ – $3\frac{1}{2}$ Atmosphären Druck noch eine Anfangsleistung von 1 Liter in 25 Sekunden hatte.

Aus meinen, allerdings kurzer dauernden Versuchen mit den Zellen No. 2, 3, 4 und 5 ist zu sehliessen, dass diese sich in Bezug auf die Filtratmengen ebenso wie Zelle No. 1 verhalten.

Ueber die qualitativen Versuche, das ist mit Bezug auf die Undurchlässigkeit gegenüber Mikroorganismen der Zellen No. 1 bis 6 im Apparate H, kann ich Folgendes mittheilen.

Im Ganzen habe ich von 78 Filtraten dieser 6 Zellen 156 Aussaaten gemacht, und zwar 36 Aussaaten von 18 Hochquellwasserfiltraten und 120 Aussaaten von 60 Filtraten, die ich nach Durchfiltrirung von 14 eoncentrirten Prodigiosus-Aufschwemmungen [$1\frac{1}{2}$ –3 Liter Aufschwemmung] erhalten hatte, durch jede Zelle wurde wenigstens 2 Mal eine Prodigiosus Aufschwemmung durchfiltrirt.

Vier Aussaaten wurden von Hochquellwasserfiltraten gemacht, die ich bei einen Drucke von $3\frac{1}{2}$ –4 Atmosphären erhalten hatte, und 20 Aussaaten von Prodigiosusfiltraten beim gleichen Druke.

Die übrigen 132 Aussaaten [32 Hochquellwasser, 100 Prodigiosus-Aufschwemmungen) stammten von Filtraten, die ich bei einem Drucke von 1 Atmosphäre erhalten hatte.

Die Aussaaten der Hochquellwasserfiltrate von 5 Zellen waren zum Theil ganz steril geblieben, manehc zeigten hie und da wenige Keime, mehr als 26 Keime habe ich jedoch nirgends gefunden. Zahlen über 20 waren bei 4 Aussaaten. Durchwachsen der Keime dureh die Filter wurden gar nie bemerkt, was wohl mit der niederen Temperatur des Leitungswassers zusammenhängt. Bei höherer Temperatur und unterbrochenem Betriebe wird dasselbe sieher erfolgen. Die Aussaaten, die ich von den Filtraten der Prodiogosus-Aufschwemmungen aus den Zellen No. 1–5 machte, blieben sämmtliche durchgehends ganz frei von Prodigiosus. Das Abbürsten der gebrauchten Zelle ohne darauf folgender Sterilisation, sowie auch das wiederholte Sterilisiren derselben, welch letzteres bei allen Zellen 10–15 Mal stattgefunden hatte, hat diese günstigen Resultate nicht beeinträchtigt.

Dagegen war Zelle No. 6 *ganz undicht*, was beim Filtriren sowohl von Hochquellwasser als von Prodigiosus-Aufschwemmung hervortrat.

Uebergehend zur Bespreehung des Versuches mit dem Filterapparate M kann ich mich kurz fassen.

Derselbe war ohne vorher sterilisirt worden zu sein, den 9. Juni in Betrieb gesetzt und blieb bis zum 16. Juli, also 38 Tage, ununterbrochen im Gange.

In quantativer und qualitativer Beziehung hat auch dieses Filter sehr gut entsprochen.

Dasselbe hatte eine Anfangsleistung von 1 Liter in 72 Sekunden. Diese Leistung nahm nur langsam und ziemlich gleichmässig ab, und betrug beispielsweise am 12. Juni 1 Liter in 1 Minute und 45 Sekunden, und nachdem die Zelle abgebürstet wurde, auf 1 Liter in 75 Sekunden. Am 16. Juni war sie auf 1 Liter in 4 Minuten und 57 Sekunden gesunken. Nach erneuerten Abbürsten stieg sie wieder auf 1 Liter in 77 Sekunden, und am 22. Juni betrug sie noch 1 Liter in 5 Minuten und 22 Sekunden.

Von diesem Datum ab nahm man täglich eine Abbürstung der Zelle vor.

Am 16. Juli, das ist am Tage, an dem der Versuch abgeschlossen wurde, war die Endleistung 1 Liter in $8\frac{1}{4}$ Minuten und nach erfolgter Abbürstung 1 Liter in 2 Minuten 5 Sekunden. Im Vergleiche zu den quantitativen Leistungen der Zellen No. 1–6 stellen sich die von No. 7 weniger günstig, doch ist diese Differenz nur eine scheinbare und verschwindet, wenn ich die folgenden Umstände erörtere.

In erster Reihe weicht diese Zelle in Bezug auf ihre Länge und Diameter von den anderen ab, ihre Länge beträgt nur 24 Centimeter, ihr Diameter $4\frac{1}{2}$ Centimeter; sie hat demnach eine kleinere Filtrirfläche.

Ferner wurde durch allzuoft wiederholtes Abbürsten der Zelle der Abstand zwischen ihrer äusseren Oberfläche und der Bürste derart, vergrössert, dass die Bürste nach und nach nicht mehr im Stande war die verunreinigte Oberfläche der Zelle so gut zu entfernen, als es für eine gute Filtration nöthig ist.

Dieses erhellt daraus, dass dieselbe Zelle, nachdem ich sie am 18. Juli, aus dem Apparate herausgenommen und sie mit einer Bürste gut gereinigt hatte, darauf 1 Liter in 80 Sekunden lieferte.

Davon aber abgesehen, war auch ihre Leistung sehr respectabl.

Sie hatte in den 38 Tagen continuirlichen Filtrirens 25937 Liter Filtrat geliefert.

Bezüglich der Keimundurchlässigkeit dieses Filterapparates kann ich die folgenden sehr günstigen Resultate mittheilen.

Im Ganzen wurden bis zum 16. Juli 5 Mal Aussaaten gemacht und zwar:—

- (1.) Am 10. Juni bei einer Leistungsfähigkeit von 1 Liter in 1 Minute und 15 Sekunden 2 Aussaaten. Bis 17. Juni entwickelten sich aus der einen Aussaat 3 verflüssigende und 10 nicht verflüssigende Colonien; aus der zweiten 4 Colonien im Ganzen.

- (2.) Den 16. Juni bei einer Leistungsfähigkeit von 1 Liter in 4 Minuten 57 Sekunden 2 Aussaaten, *a* und *b*. Bis zum 20. beobachtet, hatte *a* 3 verflüssigende und 24 nichtverflüssigende Colonien; *b* hatte 3 verflüssigende und 25 andere Keime.
- (3.) Den 22. Juni bei einer Leistung von 1 Liter in 5 Minuten 22 Sekunden 2 Aussaaten, *a* und *b* bis zum 27. beobachtet. Den 23. hatte *a* 1 verflüssigenden und 6 andere Keime; *b* 1 verflüssigenden und 12 andere Keime. Den 27. war *a* vollkommen verflüssigt; *b* zeigte 1 verflüssigenden und 126 andere Keime.
- (4.) Den 1. Juli bei einer Leistung von 1 Liter in 1 Minute 22 Sekunden 2 Aussaaten, *a* und *b* bis zum 6. Juli beobachtet. Den 3. Juli *a* 3 verflüssigende und 1 anderen Keim; *b* 2 nicht verflüssigende Keime. Den 6. Juli *a* 3 verflüssigende und 14 andere Keime; *b* 18 nichtverflüssigende Keime.
- (5.) Den 16. Juli, Leistung 1 Liter in 8 Minuten 15 Sekunden, 2 Aussaaten, *a* und *b* beobachtet bis zum 19. Juli, *a* 3 nichtverflüssigende Keime; *b* 2 nichtverflüssigende Keime.

Bedenkt man, dass die Filterzelle vor dem Versuche nicht sterilisirt worden war, so wird man auch in diesem Falle das qualitative Ergebniss wohl als sehr günstig betrachten.

Tadellose Kieselguhrfilter liefern somit, wie die Chamberland-Filter, keimfreies Wasser. Sie sind diesen aber durch die grosse Filtergeschwindigkeit auch bei niederen Drucken weit überlegen.

Nicht verschweigen will ich jedoch, dass der Fabrikant Sorge tragen muss, dass unbrauchbare, fehlerhafte Zellen, wie unsere No. 6,* nicht mehr in den Handel kommen, wenn er das Vertrauen in seine Erzeugnisse nicht gänzlich zerstören will.

Ueber die Möglichkeit einer vom Brunnenwasser ausgehenden Hühner-Cholera-Epidemie.

VON

Dr. ARNULF SCHÖNWERTH, München.

Zu Beginn des Jahres 1891 betraute mich Herr Geheimrath von Pettenkofer, Präsident der bayerischen Akademie der Wissenschaften, mit der bedeutungsvollen Aufgabe, zu untersuchen, in wie weit es möglich sei, durch das Wasser eines mit einer bestimmten Baeillenart ad maximum inficirten Brunnens, die diesem Baeillus entsprechende Erkrankung durch Fütterung hervorzurufen.

* Beim Einpressen von Luft in die in Wasser untergetauchte Zelle liessen sich die fehlerhaften Stellen in der Wand leicht erkennen.

So viel ich weiss, ist der Bacillus der Hühner-Cholera—Choléra des poules—der einzige, welcher unbeirrt von der Wirkung des sauren Magensaftes vollvirulent in den Darm gelangt und von da aus, sich zwischen die Zellen des Cylinder-Epithels einbohrend, in die Säfte des Körpers übergeht. Ist dies einer genügenden Anzahl der genannten Spaltpilze gelungen, so ist eine hämorrhagische Septicaemie die unausbleibliche Folge, und das befallene Thier geht nach 1–3 Tagen, sicher aber nach 120 Stunden, unter terminalen Convulsionen und Erbrechen einer serösschleimigen Flüssigkeit zu Grunde.

Diesen Bacillus der Hühner-Cholera wählte ich nun zur Brunnen-Infection. Ich constatirte, dass durch Verfütterung von 10 Cubikcentimeter einer virulenten Bouillon-Cultur desselben ein Huhn mindestens nach 120, eine Taube mindestens nach 60 Stunden starb. Bei Injection von $\frac{1}{10}$ Cubikcentimeter einer vollvirulenten Bouillon-Cultur in den Musculus pectoralis starben Hühner nach 48 Stunden, Tauben nach 12 Stunden mit voller Sicherheit.

Tausende von Hühnern und Tauben erliegen jährlich der Hühner-Cholera, und nicht selten wird der ganze Bestand eines Gehöftes an Geflügel auf diese Weise vernichtet.

Wenn ich nun annehme, dass die erwähnte Seuche durch das Trinkwasser der Thiere entstehe, so muss ich auch im Stande sein, durch beständiges Tränken der Hühner mit dergestalt inficirtem Brunnenwasser Hühner-Cholera zu erzeugen.

Der Bacillus der Hühner-Cholera vermehrt sich, wie meine Versuche ergaben, ausserordentlich schnell innerhalb der ersten 24 Stunden. Bringe ich in 1 Cubikcentimeter Nähr-Bouillon 183,000 Keime und halte sie auf 37° C., so zähle ich nach 24 Stunden schon 619–632 Millionen Bazillen. Eine weitere Vermehrung tritt nicht mehr ein. Nach 48 Stunden fand ich 609, nach 72 Stunden 606, nach 96 Stunden 589, nach 120 Stunden 526, nach 192 Stunden nur mehr 62 Millionen Bacillen in dem Cubikcentimeter Bouillon nachweisbar.

Nach diesen einleitenden Bemerkungen will ich auf meine Versuche eingehen.

Zuerst inficirte ich den Brunnen des hygienischen Institutes mit 2,600–3,100 Milliarden Bacillen, die in 1,520 Cubikcentimeter Bouillon enthalten waren. Der Brunnen enthielt nur 200 Liter Wasser von der Temperatur 4·9° C. Nach gehöriger Mischung mussten also im Cubikcentimeter des inficirten Brunnenwassers sicherlich 13–15 Millionen Bacillen sein. Unmittelbar nach der Infection wurde einem Huhn, das 24 Stunden gefastet hatte, von diesem Wasser vorgesetzt, ferner Brod und Weizenkörner, welche mit demselben Wasser getränkt waren, ihm zur Nahrung gegeben. Tag für Tag wurde zum Zwecke der Fütterung dem Brunnen neues Wasser entnommen und immer wieder ein neues Huhn eingestellt. Schliesslich waren es 6 Hühner, und diese wurden einen vollen Monat ausschliesslich mit dem erwähnten Wasser getränkt, und ihr Futter damit vermischt.

Es starb kein einziges Thier an Hühner-Cholera.

Um nachzuweisen, dass keines der Thiere immun geworden war, wurde einem der Versuchsthiere nach 32 Tagen 1 Cubikcentimeter

Bonillon-Cultur injicirt; dieses starb in Kurzem an Hühner-Cholera, war also nicht immun.

Beim zweiten Versuche verwendete ich den Brunnen in einem Privathause (Sonnenstrasse Nr. 7), der 1,500 Liter Wasser von 5.9° C. enthielt. Ich inficirte ihn mit 3,500–4,700 Milliarden Bacillen, enthalten in 2,700 Cubikcentimeter Bonillon. Gleich nach der Infection des Brunnens fütterte ich mit dem Wasser, das im Cubikcentimeter 3 Millionen Bacillen aufwies, eine Henne, und stellte jeden Tag eine neue ein, genau wie beim ersten Versuch—im Ganzen 6 Hennen. Das erste Thier, das nicht gleich fressen wollte, schoppte ich mit 30 gr. in Brunnenwasser eingeweichtem Brode; es starb nach 130 Stunden an Erstickung, weil sich durch das gewaltsame Schoppen ein grosser Divertikel des Oesophagus gebildet hatte.

Ich impfte 7 Bouillon-Proben mit dem Blute dieses Thieres, und liess sie 8 Tage lang bei 37° C. stehen, ohne dass sich eine Entwicklung von Bacillen zeigte. Es war mithin sicher keine Hühner-Cholera vorliegend; die übrigen 5 Hühner blieben vollkommen gesund.

Bei diesem II. Versuche injicirte ich gleich nach der Infection des Brunnens einem Thiere 2 Cubikcentimeter Wasser in den Museulus pectoralis und wiederholte dieses Tag für Tag an weiteren Versuchsthieren, welche sämmtlich der Hühner-Cholera erlagen. 138 Stunden nach der Infection des Brunnens waren in 2 Cubikcentimeter Wasser noch so viel Bacillen enthalten, dass eine Taube an der Injection derselben starb; 185 Stunden nach der Infection genügten 2 Cubikcentimeter nicht mehr; das damit injicirte Thier blieb am Leben, während ich nach 257 Stunden durch Injection von 4 Cubikcentimeter noch eine Taube an Hühner-Cholera sterben sah. Am nächsten Tage verwandte ich 6, dann 8, schliesslich 12 Cubikcentimeter ohne jeden Erfolg.

Aus diesen Thatsachen musste ich schliessen, dass der Brunnen nach 280 Stunden seine Virulenz vollständig verloren hatte.

Bei einem III. Versuche mit dem Brunnen des physiologischen Instituts, der 600 Liter Wasser mit einer Temperatur von 6.2° C. fasste, wurden zur Infection 3,000 Cubikcentimeter Bouillon verwendet, die 5,200 Milliarden Hühner-Cholera-Bacillen beherbergten. Nach der Infection trafen auf den Cubikcentimeter Brunnenwasser 9 Millionen Bacillen. Es wurden nun sofort 6 Hühner in derselben Weise wie bei den ersten beiden Versuchen gefüttert. Eines der Hühner hatte sich bei Einbringung in den Käfig den Fuss gebrochen. Mit Absicht liess ich diesmal den Käfig nicht reinigen, um eher eine Erkrankung zu erreichen. Dies gelang denn auch bei dem Huhn mit dem gebrochenen Fusse, das beständig auf dem Boden sass und dessen Schnabel verletzt war. Es starb am 19. Tage der Fütterung.

Ich konnte zwar in 8 Deckglaspräparaten von dem Blute desselben keinen einzigen Bacillus nachweisen, jedoch gingen einige Bouillon-Culturen nach mehreren Tagen an, und schienen dieselben nach eingehender Untersuchung wirklich Hühner-Cholera-Bacillen zu enthalten.

Sehr interessant waren diesmal die Injections-Versuche. Jeden Tag wurde einer Taube frisch entnommenes Brunnenwasser injicirt und selbst nach 8 Tagen noch starben die Thiere an der Injection von $\frac{1}{4}$ Cubikcentimeter, wenn auch erst 176 Stunden nach der Injection. Nach 15 Tagen genügte die Injection von $\frac{1}{2}$ Cubikeentimeter eben noch; nach 21 Tagen führte die Injection von 1 Cubikeentimeter den Tod herbei; nach 22 Tagen nicht mehr. Nach 24 Tagen blieb selbst eine Injection von 12 Cubikcentimeter resultatlos.

Es verdient bemerkt zu werden, dass vom 20. Tage ab massenhaft Crustaceen und Parametien im Wasser auftraten, obwohl ich früher kein einziges dieser Thiere bemerkt hatte.

Es nahm also die Virulenz sehr langsam ab, und hielt sich nahezu 3 Wochen auf einer ziemlich hohen Stufe, um dann mit einem Male aufzuhören. Möglich ist immerhin, dass die Wasserthiere an dem Verschwinden der Baeillen betheiligt waren.

Die Hühner wurden einen Monat lang gefüttert und beobachtet, blieben aber vollständig gesund und munter.

Ein IV. Versuch ist gegenwärtig im Gang. Diesmal sollen die Bazillen allein, ohne Bouillon in den Brunnen eingeführt werden, weil ich glaube, dass sich die Baeillen nur durch das gleichzeitig eingeführte Nährmaterial so lange halten konnten.

Nach meinen bisherigen Versuchen zu urtheilen, kann ich nur folgende Behauptungen aufstellen:—

- (1.) Selbst wenn ich Brunnenwasser mit einer Anzahl von Baeillen inficire, die in der Natur niemals annähernd erreicht wird, bewirkt dieses Wasser keine Epidemie, falls die Thiere gesund sind und einigermassen reinlich gehalten werden. Wenn von den 18 gefütterten Hühnern eines an Hühner-Cholera starb, so ist dies nur dadurch ermöglicht worden, dass das Thier sich in Folge seines gebrochenen Fusses auf dem mit Excrementen mehrere Centimeter hoch bedeckten Boden aufhalten musste und zu dem auch am 12. Tage eine nicht unbeträchtliche Verletzung des Schnabels und der Zunge erlitten hatte, also unter den denkbar ungünstigsten Bedingungen stand.
- (2.) Die Baeillen halten sich eine gewisse Zeit lang im Wasser virulent, um so länger, je mehr Baeillen eingeführt werden und je grösser das Verhältniss des mit eingeführten Nährmaterials zur Wassermenge des Brunnens ist.
- (3.) Wasserthiere, Crustaceen und Parametien scheinen die Baeillen rasch aufzuzehren. Ebenso ziehen Wurzeln und Algen die Baeillen rasch an sich, wie das beim Brunnen des II. Versuches der Fall war.
- (4.) Die Möglichkeit einer Infection durch Fütterung ist verschwindend klein gegenüber der Infectionsmöglichkeit durch Impfung und Injection.

Demnach wird es um so unwahrscheinlicher sein, dass eine Epidemie von einem im Gebrauch stehenden Brunnen ausgehe, je höher

sieh die Wassermenge desselben beläuft, vorausgesetzt, dass das Wasser frisch, klar und geruehlos ist. Ein solcher Brunnen wird mit einem Male kolossale Mengen von Bakterien aufnehmen können, ohne dass durch den Genuss seines Wassers eine Infection zu befürchten wäre.

Die Lebensfähigkeit der Bacillen in Brunnenwasser hängt nach meiner festen Ueberzeugung nur von dem Gehalt des Wassers an organischer Substanz ab, wenn ich von der Temperatur absehe.

Trotzdem wird aber auch stark verunreinigtes Wasser, bei einer plötzlichen Invasion von Bacillen in dasselbe, wie es der Brunnen vom 3. Versuche war, nur ausnahmsweise und unter besonderen Bedingungen eine Epidemie erzeugen können.



Some Fermentations excited by Specific Micro-organisms.

BY

PERCY F. FRANKLAND, Ph. D., B.Sc. (Lond.), F.R.S., Professor
of Chemistry in St. Andrews University, Dundee.



Although a great number of chemical changes have long been known to owe their consummation to the presence of micro-organisms, yet it is in comparatively few instances that specific forms have been connected with particular reactions, and in fewer cases still has it been ascertained whether a particular chemical change can be brought about by different organisms.

Having for several years past been devoting much of my attention to this subject, I take this opportunity of summarising some of the results which I have obtained.

(1.) *The oxidation and reduction of combined nitrogen.*—Among the simplest chemical changes which are known to take place through the agency of bacterial life are the oxidation and reduction of combined nitrogen. Both of these processes I have investigated and have succeeded in connecting them with the life of specific organisms.

No less than 32 specific micro-organisms, mostly obtained by myself from air, water, and soil, were examined for their action upon nitrates in a solution containing organic matter in the form of peptone and glucose. (1.) Of the 32 forms examined, 16 or 17 were found to reduce nitric to nitrous acid, more or less completely, whilst 15 or 16 were quite destitute of this power. (2.) This difference in reducing power was, in certain cases, found to be of great value in distinguishing between micro-organisms morphologically similar. (3.) This reducing power was found to be independent of the admission or exclusion of air to the medium during the growth of the organisms in question. (4.) In no case did the reducing action lead to the formation of any considerable amount of ammonia, such development of ammonia as there was being attributed principally, if not wholly, to the decomposition of the

peptone. (5.) In the case of two of the organisms, *Bacillus ramosus* and *B. pestifer*, both possessing a strong reducing power, it was found by detailed experiments that the quantity of nitrate reduced to nitrite in a given time was dependent on the proportion of organic matter—peptone and sugar—present in the solution, the peptone exerting a far greater influence in this respect than the sugar. (6.) In these special experiments it was found that the development of ammonia was dependent upon the peptone and sugar present, the amount of ammonia formed being greatest with the highest proportion of sugar to peptone. (7.) In nearly all cases in which partial or total reduction of nitrate to nitrite had taken place, the sum of the nitrogen as nitrate and nitrite in the fermented solution was practically identical with the nitric nitrogen in the original unfermented liquid, whilst in those cases in which no reduction to nitrite took place the nitrate in the solution remained practically unaffected by the growth of the organism. In one case, however, in that of *B. aquatilis*, which does not reduce nitrates to nitrites, it was found that a considerable proportion of nitric nitrogen disappeared during the growth, this result being confirmed by a second independent experiment. (8.) None of the organisms under examination was found capable of oxidising ammoniacal nitrogen to nitrous or nitric acids when introduced into a nutritive solution containing ammonium chloride.

In consequence of all the available pure cultures being incapable of effecting the oxidation of ammonia, I proceeded to attack the problem from the other side, by endeavouring to isolate an organism capable of producing this change from mixtures of organisms endowed with this power. Such mixtures are always readily obtainable from garden soil, which is well known to produce nitrification with great facility. It had previously been demonstrated by several other investigators that this nitrification can take place in the absence of organic matter, indeed that it is actually favoured thereby, and I therefore cultivated the organisms of garden soil in an ammoniacal solution, to which no organic matter in any form whatsoever had been added, thinking that in this way many, if not all, of the forms unconnected with nitrification would be starved out. But although these cultivations in a purely mineral medium were carried on over a period of nearly three years, a number of forms had still survived, thus showing that many bacteria are capable of subsisting on mineral food alone. Numerous attempts were made to isolate the nitrifying organism from this series of cultures by gelatine-plate cultivation, but in no case could nitrification be induced by any of the colonies taken from the plates. Recourse was, therefore, had to the process of dilution in order to isolate the nitrifying organism from the other forms with which it was still associated. After numerous failures, such a dilution was at length obtained, that of a number of bottles containing sterile ammoniacal solution, inoculated with this dilution, some nitrified and some did not, some yielded growths on gelatine and some did not, and of two which had nitrified one yielded a growth on gelatine, whilst the other did not. This solution, then, which had nitrified, but which yielded no growth on gelatine, it was concluded,

contained the nitrifying organism in a state of purity. On microscopic examination the organism in question was found to be a very short bacillus, about $\cdot 8 \mu$ long, and hardly longer than broad; only vibratory motion was observed. For this organism I propose the name of *Bacillo-coccus nitrificans*. In no case was the oxidation of the ammonia with these pure cultures found to proceed beyond the formation of nitrous acid.

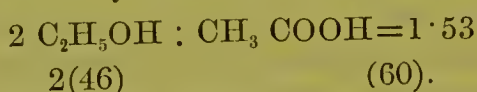
A month later than the publication of the above results, Winogradsky made known in the *Annales de l'Institut Pasteur* (t. iv., No. 4) that he had succeeded in isolating a nitrifying organism, apparently the same as the above, using, however, a totally different process of separation, but employing exactly the same guarantee of purity, viz., the incapacity of the nitrified solution to yield a growth on transference to gelatine.

(2.) *Fermentation of carbohydrates, polyhydric alcohols, and acids.*—In pursuing the subject of fermentation in this direction, I have succeeded in isolating an organism from sheep-dung which sets up some interesting changes in a number of these substances—glucose, galactose, rhamnose, arabinose, maltose, lactose, cane-sugar, raffinose, dextrin, starch, mannite, glycerine, glyceric acid—whilst it produces no fermentation in dulcitate, erythrite, glycol, tartaric acid, citric acid, lactic acid, or glycollic acid. As far as the products of these fermentations have been investigated by me, they invariably consist of ethyl alcohol and acetic acid, with smaller quantities of formic and succinic acids, whilst the gaseous products are carbonic anhydride and hydrogen. I have in consequence designated this organism, the morphological characters of which I have also very carefully defined, the *Bacillus ethaceticus*.

The proportion of alcohol to acetic acid in the mannite fermentation was found to be

$$1.63 : 1,$$

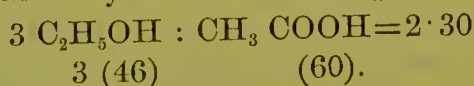
corresponding approximately to the molecular proportions



In the fermentation of glycerine the relationship was

$$2.11 : 1,$$

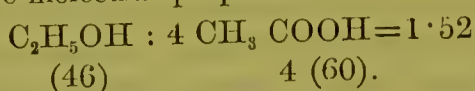
corresponding approximately to the molecular proportions



In the fermentation of glyceric acid the relationship was

$$1 : 5.45,$$

corresponding to the molecular proportions



In fact, the following equation may be provisionally suggested representing the change:—



The fermentation of glyceric acid (calcium glycerate was actually employed) by the *b. ethaceticus* led to the interesting discovery of an active glyceric acid. Thus, at the end of the fermentation, it was found that just about one-half of the glyceric acid remained unchanged, and whilst the original ordinary glyceric acid is well known to be inactive, this residual glyceric acid was found to have the property of rotating the plane of polarisation to the right, while its salts, as far as I have yet investigated them, rotate the plane to the left. Thus the specific rotation of the calcium salt

$$(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_4)_2 \text{Ca}, 2 \text{OH}_2 \text{ is } [\alpha]_{\text{D}} = 12.09.$$

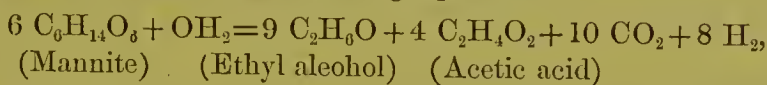
As in the case of sarcolactic acid, so this active glyceric acid forms an anhydride which rotates powerfully in the opposite direction to that of the acid itself.

Fermentation induced by the Pneumococcus of Friedländer.

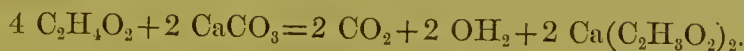
It was shown by Bricger some years ago that by growing this organism in suitable solutions of grape or cane-sugar a fermentation process is set up which leads to the formation of acetic acid, together with some formic acid and ethyl alcohol. I have recently extended these observations, and have found that this organism not only ferments dextrose and cane-sugar, but also lactose, maltose, raffinose, dextrin, and mannite, whilst I have found it incapable of attacking either dulcitol or glycerine. In the fermentation of dextrose and mannite, I found that the principal products were ethyl alcohol and acetic acid, with a smaller proportion of formic acid and a trace of a fixed acid, in all probability succinic, whilst the gaseous products are carbonic anhydride and hydrogen. These several products were, in the case of the mannite fermentation, quantitatively determined, and found to stand to each other in the following molecular proportions:—



The formation of these products in the above proportions may be most readily referred to the following equation:—



which is followed by



It thus appears that the fermentation induced by the *Pneumococcus* of Friedländer is essentially similar to, and probably actually identical with, that brought about by the totally distinct bacillus *ethaceticus*. Indeed, I have reason to believe, from these and other investigations which are still in progress, that fermentations yielding these products are exceedingly common, and are brought about by a number of distinct organisms, although there is a considerable difference amongst these forms as to the range of substances which they are capable of attacking.



Summary of Results.

Proteus vulgaris.—This organism is incapable of producing ammoniacal fermentation in normal acid urine.

It increases for a while in the fluid, but no sufficient evolution of ammonia occurs to bring about the precipitation of earthy phosphate or the formation of crystalline ammonio-magnesian phosphate.

This result corresponds with the fact that there is very little growth of proteus in Cohn's nourishing solution. Proteid material is the proper food of the microbe, and where this is wanting scarcely any growth occurs.

Pyococcus aureus and *Pyococcus albus*.—Both of these bring about a rapid and pronounced ammoniacal fermentation of acid urine. The fluid soon becomes turbid and deposits earthy phosphates, whilst large feathery crystals of ammonio-magnesian phosphate adhere to the upper surface of the vessel, and the tests before referred to show an evolution of ammonia into the air of the flask.

This is a result of interest, for it shows that a purely suppurative process affecting the urinary track is sufficient to induce ammoniacal fermentation without there being necessarily introduced from without (as by a catheter) any special organism like the *Micrococcus* or *Bacterium ureæ*.

And from the first observation it will appear also that the introduction of *Proteus vulgaris* directly into the bladder will not cause ammoniacal fermentation, although in practice the introduction of this organism could hardly occur alone, and without that of other organisms which are able to effect the hydrolysis of urea. This is not the occasion, however, to point out the bearing these facts have on clinical observation.

Streptococcus Pyogenes bovis and *Streptococcus Pyogenes hominis*.—Both of these organisms grow very slowly, and to a slight extent only in acid urine, and they do not induce ammoniacal fermentation.

In regard to the hydrolysis of urea, the action of micro-organisms, though necessary under ordinary circumstances, is not absolutely essential.

The chemical results of certain fermentations may be brought about in other ways than by ferments, whether organised or unorganised, *e.g.*, the action of dilute sulphuric acid on starch is like that of diastase, boiling will convert proteid into peptone, &c. And during the course of my experiments, I found that the hydrolysis of urea may be readily brought about by boiling. If a solution of pure urea in distilled water be boiled for a short while in a flask, the continuous evolution of ammonia can be quite easily shown by holding a white rod of glass, dipped in Nessler's re-agent, in the vapour, or by holding in the vapour red litmus paper moistened with distilled water; the red paper is at once turned blue, and the blue colour disappears on drying. This continuous disengagement of ammonia is equally to be observed in solutions of pure urea of the strength corresponding to that of urine.

Lastly, this hydrolysis of urea by boiling explains the common clinical observation that neutral, or slightly acid urine, if boiled, deposits

earthy phosphates. This fact has received various theoretical explanations. It depends really upon the disengagement of ammonia by the hydrolysis of the urea.

If we take even the most acid urine, the same deposit can be brought about if it be boiled in a flask, provided that the boiling be *continued*; it may require 15 minutes. Nessler's re-agent on the glass rod will show at first scarcely a trace of ammonia in the vapour; but as the boiling is continued, the ammonia reaction becomes more and more pronounced, and then suddenly the urine grows turbid, and if the boiling be carried further, an abundant precipitation of earthy phosphates is brought about.

The process may be exactly imitated by boiling acid urine, and, as soon as it is boiling, plunging in a glass rod dipped in solution of ammonia; turbidity and precipitation of earthy phosphates at once occurs.

If ammonia be added in excess to acid urine in the cold, the precipitate is one of feather crystals of ammonia-magnesian phosphate. But the difference in result is dependent upon the differences in the amount of ammonia added. So in the common process of fermentation of urine outside the body, the earthy phosphates are first deposited as the acidity is neutralised by the ammonia evolved, and, as the evolution of ammonia proceeds, crystalline ammonio-magnesian phosphate is superadded.

The Influence of Microphytes on Arsenical Wall-Paper.*

BY

Dr. B. GOSIO, Assistant in the Scientific Laboratories of the Direction
of Public Health, Rome.

It is not a recent notion that from wall papers and tapestries coloured with arsenic compounds—Scheele, Schweinfurt green, &c.—poisonous products may arise under certain conditions, and experience has repeatedly taught us of their possible danger to health. But as to the mechanism by which these decorations become injurious, opinions are as yet divided. The idea that poisonous gases can arise by influence of microphytes had and still has credit among observers, but as experiments have till now been few, most of them with negative results, the theory given forth by W. Forster and Gigiloli, is that most accepted. These observers state that wall papers and tapestries coloured with arsenic compounds become injurious in consequence of solid particles being mechanically detached and inhaled into the lungs in the form of dust.

* Communicated by Professor L. Pagliani, Director of Public Health, Ministry of the Interior, Rome.

Those who support the parasitic theory are not able to point out which micro-organisms are best able to bring forth the changes they refer to.

I have undertaken a series of experiments which contribute to the study of this interesting question of hygiene and toxicology. These experiments have already yielded results which allow us to determine not only the possibility of micro-organisms producing arseniuretted hydrogen or arsenical gases in general from fixed arsenic compounds (arsenic acid, arsenites, arseniates), but also which species of them are especially capable of effecting this transformation.

I have for this purpose prepared several potato paps containing from 0·05 to 0·1 grammes per 1,000 of arsenic acid, and distributed them in broad capsules. I kept these uncovered for some days in a cave. Soon a flourishing vegetation of moulds and common microbes of the air set in, and by the end of a week, a strong smell of garlic was perceptible, a mark of arsenical gas emanation.

I then put the cultures in a large damp chamber, through which, by means of an automatic pump, a current of air was made to pass for two consecutive weeks into a solution of nitrate of silver.

A great reduction of this salt and the formation of arsenic rings and stains with Marsh's apparatus were the convincing proofs that arseniuretted hydrogen had passed into the silver solution.

Whilst this was a valuable datum for a conclusion, other paps, in which germs of many other species had spontaneously developed, gave no signs of having decomposed arsenic acid.

This difference of results, while reconciling the opposite conclusions several observers have come to, could not well be explained, except by holding that germs of different kinds had developed in the cultures, as all the other conditions (warmth, humidity, air, and nourishment) had been kept unvaried.

At this stage, I began the work of isolating the germs, and made experiments on pure cultures. The results of these experiments I shall deal with fully afterwards in my detailed work.

I state now, however, that amongst common microbes largely diffused in the surrounding air, the number of those capable of forming arseniuretted hydrogen from fixed arsenic compounds is small. Even among the moulds, only a few species are capable of effecting this transformation. Among these the most important is *mucor mucedo*, from whose cultures I could get the most abundant supply of arseniuretted hydrogen.

It is easy for anyone to confirm this observation for himself; it is only necessary to grow that mould upon potato slices that have been previously soaked 10–12 hours in a dilute solution of arsenious acid. When the culture has prospered, the characteristic odour of garlic is very marked.

On experimenting with *mucor mucedo* (all experiments had a positive result), I could observe that if I treated with a strong base (potash, soda) the silver solution which had oxidised the arseninretted hydrogen, a volatile compound with a strong garlic odour was soon set free. It seems then that volatile compounds of the *arsine* family are formed in those cultures.

In order to differentiate these compounds I am now preparing, together with Dr. Gorini, more abundant material for further researches, using pure cultures of *mucor mucedo* kept in the best conditions to get an abundant supply of the gas in question.

In the meantime, to follow the practical course I had originally proposed to myself, I shall repeat the experiments on wall papers and tapestries coloured with different arsenic compounds in order to ascertain what conditions of atmosphere besides humidity are favourable to the developing of the *mucor*, and which arsenic compounds are most likely to undergo this transformation.

I shall give a full exposition of the results and processes followed, when completed. I conclude now, by saying that from fixed arsenic compounds poisonous gases may arise under the action of certain micro-organisms, to which, by analogy with the *sulphobacteria*, the name of *arseniobacteria* may fitly be given.

The principal members of this class of organisms are moulds, and *mucor mucedo* is the most deserving of notice—in a far smaller degree *aspergillus glaucus*.

I cannot yet say whether this property is common to all *mucorinæ* in general and whether this transformation is to be interpreted as a reducing action. As has been shown by certain observers, hydrogen is set free by growing moulds, and it might reasonably be suggested that the same process takes place here, in consequence of biological processes, as takes place in Marsh's apparatus in consequence of chemical action. It is to be observed, however, that the works published on the subject do not show that any exact method of research has been followed as regards the purity of cultures. One cannot help, then, putting the question: Is the nascent hydrogen found in those cultures of moulds really a product of the moulds themselves, or rather a product of other concurrent bacteria?

This objection, together with the consideration that moulds generally express their activity by oxidising rather than by reducing processes, makes it as yet impossible for me to utter any decided opinion on the matter at present.



The Bacteriology of Vaccine Lymph.

BY

S. MONCKTON COPEMAN, M.A., M.D. Cantab, Research Scholar of the
British Medical Association, late Assistant Lecturer on Physiology,
St. Thomas's Hospital.

Numerous have been the attempts, ever since bacteriology first took rank as an exact science, to solve the problem as to the nature of the active principle of vaccine lymph, and in consequence of this, and of the great difficulty of the subject, a mass of literature has gradually accumulated sufficient to appal anyone newly entering upon the task.

The fact, however, that in the absence of any sufficient knowledge on this point, the whole practice of vaccination as at present carried out is more or less empirical, may perhaps furnish excuse for still further attempts in this direction. I therefore venture to bring forward the results of an investigation of this subject, on which I have been engaged at intervals for the last eighteen months.

As a first step it appeared desirable to obtain proof, if possible, of the particulate nature or otherwise of the essential cause of vaccinia, since the theory has recently been advanced that this is to be looked for, not in the form of a living micro-organism, but in that of an enzyme capable of reproducing itself by means of its own action on the living tissues with which it comes in contact; the supporters of this view relying on the want of success that has hitherto been obtained in attempts at cultivation of the virus in various nutrient media outside the animal body in justification of their contention; although, as far as I am aware, no trustworthy evidence has ever been brought forward in support of such a theory.

With the object, then, of putting this point to the test, I determined, in the first place, to repeat, under possibly more favourable conditions, experiments which had been previously carried out by Cohn, Chauveau, Burdon-Sanderson, and other observers, by whom demonstration had apparently been afforded that while vaccinia was incapable of being produced by the fluid portion of vaccine lymph from which all solid particles had been separated by deposit or filtration, on the other hand, inoculation of such separated particles was capable of setting up vaccinia. My own experiments were carried out in the following manner:—With some difficulty about two cubic centimetres of calf-lymph were obtained and intimately mixed with double that quantity of normal saline solution, or of a 50 per cent. solution of glycerine in distilled water. This dilution was carried out with the object of obtaining a more workable amount of fluid, experience derived from inoculation experiments having shown that such admixture of dilute glycerine exerted no deleterious effect, but rather, if possible, the reverse, on the potency of the lymph to which it was added. An incidental advantage was also found in the fact that the fluid

obtained in the latter case especially did not tend to become of increased density from exposure to air during the process of filtration, as is liable to occur if pure vaccine lymph be employed alone. Such diluted lymph was, for the purpose of these experiments, aspirated through a Kitasato's porcelain filter by means of an exhaust pump actuated by water-pressure, the porcelain bougie resting in a small test-tube of but slightly larger diameter than its own, the test-tube itself being enclosed, for convenience of working, in a larger flask connected up with the pump. In this way extremely small quantities of fluid could be exposed to the filtration action, while loss of the filtrate was obviated by keeping it stored in the test-tube (previously sterilized) into which it dropped, and which was securely plugged and covered with an india-rubber cap as soon as sufficient filtrate had been obtained.

With the object of testing the potency, or the reverse, of the filtrate, a number of inoculations were carried out, both on human beings and also on the lower animals, especially calves, but in no single instance was any obvious result obtained, no vesicle ever putting in an appearance at the seat of inoculation.

In this respect, then, my experiments confirm those of previous observers; but although they might appear to prove beyond doubt that the active principle of the lymph was indeed particulate, further consideration showed that this is not necessarily the case. For Sidney Martin has demonstrated in connexion with his work on the products resulting in nutrient media from the vital processes of the anthrax bacillus, that if any of the alkali albumen in his "artificial serum" has failed to become converted into albumose, such alkali albumen is separated off during the process of filtration through porcelain, to which the fluid is subjected by him with the object of removing the bacilli themselves. I have myself observed a somewhat similar fact. When searching for a good medium for certain organisms, it struck me that milk would fulfil the conditions I required, provided the fat globules could in some way or other be separated from the other constituents without these latter becoming in any way altered. Thinking that possibly filtration through porcelain might have the desired effect, I put the matter to the test, with the result that I obtained a perfectly transparent fluid like water, but possessing a slightly yellowish tinge. On examining the filtrate chemically, however, I found that not only had the fat been separated, but the greater part of the casein also, while the fluid contained the normal proportion of serum-albumen, sugar, and salts. In this instance also, then, a body somewhat allied to alkali-albumen, and in solution in the milk experimented upon, had been unable to find a passage through the pores of the filtering material. Consequently, although the theory of a "contagium vivum" is all but universally accepted at the present day, it will be seen that such experiments as I have described show that since certain bodies of a proteid nature are incapable of passing through a porcelain filter, such a method of treatment when applied in the case of vaccine lymph, does not demonstrate with absolute certainty that because the filtrate is incapable of inducing vaccinia when inoculated into the animal body, therefore the essential principle of vaccine virus is particulate.

It may be objected that "deposit" experiments are not open to a similar fallacy; but it must, I think, be obvious that if the numerous bacteria present in vaccine lymph, many of which, at any rate, have, in my belief, no part in the specific action of the lymph, be separated in such a manner, there is no reason why they should not carry down with them minute traces of some substance, possibly of a proteid nature, which, as contended by Dr. Cory and others, may represent the essential principle of the virus. The outcome of my filtration experiments goes, then, to show that although the results are not incompatible with the generally received opinion as to the particulate nature of the important constituent of vaccine lymph, the problem is perhaps not quite so easy of solution as might at first sight appear to be the case. And a similar remark will of course apply to experiments of a converse nature, in which removal and inoculation into the animal body of such constituents of the lymph as are retained by a porcelain filter, has resulted in the production of normal vaccine vesicles.

I next turned my attention to the identification of the various micro-organisms which can be grown as the result of inoculation of various nutritive media with vaccine lymph. And here I should remark that in all the experiments of this series, calf-lymph alone was used, as it seemed probable that by these means one would obtain more constant results.

The number of experiments made by me for the purpose of cultivation of bacteria present in the lymph has been so great, that it would be wearisome to give any detailed account of them, and consequently I propose giving, on the present occasion, a resumé merely of the results that I have obtained. In the first instance, both "streak" and "stab" inoculations were made with a trace of lymph on the surface or into the substance of not only nutrient gelatine, but also of agar-agar and of glycerine agar masses. In all of these, growth became apparent after the lapse of a few hours or days according to the temperature at which the tubes were kept. The resulting growth was usually tinted of a more or less yellow or orange colour, particularly in "streak" cultivations, or at the upper part of those resulting from a "stab"; in other words, where there had been free access of air; and the colour was in every case much more marked in gelatine than in agar cultivations. The cultivation resulting from a "streak" inoculation was, as growth went on, seen to present distinctly raised and rounded edges, the whole mass being more or less glistening, and often not uniformly coloured. A "stab" cultivation, on the other hand, showed greater luxuriance of growth on the surface, where there was free access to air, than lower down, but it usually occurred to a greater or less extent along the whole line of the needle track, the colour of the growth, except at the free surface, being of a greyish-white, with occasionally the slightest trace of brown. In addition to the well-defined line representing the path that had been taken by the inoculating needle, numerous discrete points of growth were seen as minute dots extending beyond, but parallel to, the main line of development. Small portions of these growths, when transferred

to cover-glasses and stained in various manners, showed masses of micrococci similar to, but of course in much greater numbers than, those which could in like manner, be demonstrated in vaccine lymph itself.

As it was evident that more than one organism could usually be obtained by the inoculation of lymph into nutrient media, plate cultivations were made with the object of separating out the different varieties present, both gelatine and glycerine agar being used for this purpose. In this manner I succeeded in obtaining pure growths of various micro-organisms, of which those which almost invariably occurred included micrococci apparently much resembling, if not identical with, the following:—

- (1) *M. Pyogenes aureus* ;
- (2) *M. Cereus flavus* ;
- (3) *M. Epidermis* (? *Staphylococcus albus*, Klein).

In these observations I find my experiments are in agreement with those of Pfeiffer, while doubtless these various micrococci correspond respectively with Buist's so-called orange, yellow, and white vaccine. In addition, I occasionally found another organism, which from its morphological and microscopical characteristics, I believe to be streptococcus pyogenes. In order to test which action, if any, these various microphytes were capable of exerting, they were inoculated, both in pure culture and mixed in various proportions, not only on the calf, but on the human being and on the rabbit, since this latter animal is apparently susceptible to vaccination performed in the ordinary manner. Such inoculations, for the most part, produced little or no effect, although inoculation of streptococcus pyogenes alone occasionally caused the appearance of a small circumscribed inflammatory patch around the point at which it was inserted. In one instance also a rabbit died, apparently of septicæmia, after inoculation of a mixed growth of the various organisms previously mentioned, together with a certain amount of broth in which they had been grown. In the whole series of inoculations, nothing resembling a vaccine vesicle was seen, so that it was, apparently, pretty certain that none of the organisms that had been isolated in the manner described could be directly concerned in the causation of vaccinia.

As it appeared possible that their exuberant growth might be capable of preventing the development of the more important organism for which I was seeking, an attempt was next made to isolate it by some method of treating vaccine lymph, which should destroy all extraneous micro-organisms without injuring its potency for vaccination.

Having in mind the method by which Kitasato succeeded in obtaining pure cultures of the tetanus bacillus, I considered whether it might not be possible in like manner to isolate the specific organism of vaccinia. For the purpose of testing the effect of similar measures, I exposed capillary tubes of fresh vaccine lymph to different temperatures for varying lengths of time, afterwards inoculating a portion of the contents of these tubes on the calf, a second portion being used for the making of plate-cultivations in nutrient gelatine and agar-agar. By proceeding

in this manner, after numerous experiments, I presently arrived at a temperature at which those organisms which usually grow so luxuriantly when vaccine lymph is inoculated into nutrient jelly are apparently incapable of continued existence after exposure to its influence for a certain length of time.

In the first instance, I exposed test-tubes, containing half-a-dozen filled capillary tubes apiece, in an incubator at a temperature of 60° C. for an hour at a time; some of them being treated in this manner on one occasion only, while others underwent similar treatment for periods varying from one to six days. At the same time, tubes of alkali-albumen solution, specially prepared from blood serum, were inoculated with vaccine lymph, and intermittently exposed to a similar temperature in like manner to the different series of capillary tubes.

Plates were then poured from gelatine and agar-agar tubes inoculated both from the capillary tubes and from the tubes of alkali-albumen solution. These plates were in each case poured *direct from the tube first inoculated* without the intervention of secondary or tertiary dilutions, in the ordinary manner. In no single instance, however, did any growth result, so that it was evident that all the organisms which usually spring up in cultivations of vaccine lymph had been destroyed.

At the same time a calf was inoculated on certain definitely circumscribed areas of the abdomen previously shaved, with lymph from the capillary tubes, and also with fluid from the alkali-albumen tubes, treated in the manner just described, but in this case also the result was negative in every instance, so that evidently the temperature to which the tubes had been exposed, had not only destroyed all extraneous micro-organisms, but probably also the true vaccine virus itself.

Dr. Husband some years ago found, experimentally,* that exposure of lymph stored in tubes to a temperature of from 80° to 90° Fahr. (33·3° C.) for several hours daily (period not mentioned) did not in any way affect the properties of the lymph so treated; and on repeating his experiments, I found that such was the case. Obviously then, it was necessary to seek for a temperature between the limits of 33° C. and 60° C., at which, if possible, the extraneous organisms would be incapable of existing, without at the same time injuriously affecting the proper action of the lymph.

After a long series of experiments with lymph exposed to various temperatures between the limits mentioned, and for varying periods of time, I have apparently determined that the required temperature is one ranging between 38° C. and 42° C. For exposure to the higher of these temperatures for an hour has the effect of preventing the growth in plate cultivations made subsequently, while at the lower temperature a few points of growth are occasionally seen after the lapse of a day or so. At the same time, however, the higher temperature appears occasionally to exert an injurious effect on the lymph, as far as regards the normal vesiculation which should result from the inoculation of vaccine lymph. Further experiments are therefore needed before the most

* Handbook of Vaccination, Seaton, p. 153.

suitable temperature and most desirable length of exposure can be definitely determined.

When this has been done, provided that the so-called "virus" does in reality owe its peculiar properties to the presence of a living organism, it will be only a matter of time before a cultivation medium suitable for its growth is found, and a demonstration of its biological and morphological characteristics thus rendered possible.

It does not, however, by any means follow that because no vesicles result from the inoculation of lymph treated in the manner I have described, that no effect is produced on the animal so operated on. Indeed, for a time, at any rate, there may be protection from the effects of the subsequent inoculation of fresh untreated lymph. This was notably the case in one calf which was first inoculated, apparently unsuccessfully, with lymph which had been exposed to a temperature of 48° C. for an hour, and a week later inoculated by Dr. Cory directly from another animal, the lymph from which latter animal was at the same time used with perfect success in the case of other calves, and of a number of children. On this particular calf, however, the operation performed by Dr. Cory was altogether without result, thus apparently showing that the use of the "treated" lymph, though itself producing no vesiculation, had rendered the animal insusceptible to the subsequent operation with fresh lymph.

Supposing always that a micro-organism is normally present, we may perhaps explain the occurrence of such immunity on the supposition that the temperature to which the lymph had been subjected was sufficient to destroy the vitality of the organism without, however, affecting the potency of certain of its products in the lymph.

This experiment obviously points to the possibility of obtaining all the desired, without any of the possibly dangerous, effects of vaccination, by the use of such sterilized lymph, either used in the ordinary way or subcutaneously injected after dilution with normal saline solution. Such a method of procedure would, of course, render arm-to-arm vaccination an impossibility, but provided that sufficient lymph could be otherwise obtained, perhaps this would not be altogether an unmixed evil.

Conversely, lymph which has been subjected to the conditions of temperature just described as most suitable for the removal of extraneous organisms, is apparently more potent, in its visible effects, at any rate, than lymph freshly obtained. Thus, the calf which Dr. Cory attempted unsuccessfully to inoculate with fresh lymph, was at the same time inoculated on another portion of the abdomen with active "treated" lymph, with the result that while, as previously stated, no visible effect was produced in the large area operated on by Dr. Cory, five vesicles appeared as the result of ten incisions in the area in which the "treated" lymph had been employed.

Early in my experiments, my attention was called to the fact that lymph stored in capillary tubes nearly always becomes cloudy after a longer or shorter interval, while at the same time it often becomes uncertain in its action when subsequently used for vaccination.

I endeavoured, therefore, in the first place, to determine the reason for the opacity which occurs in stored lymph; and, secondly, to find, if possible, some means of preventing such an occurrence. As regards the first point, experiments were carried out as follows:—A large number of capillary tubes were filled with calf lymph, every precaution as to cleanliness and careful sealing of the tubes being observed. These tubes were then set aside, not, as is usually the case, lengthwise, but on end. After the lapse of a few weeks all the tubes presented little points of opacity, and on careful examination it was obvious that each of these occurred where a surface of the lymph was in contact with a bubble of air. Moreover, it was always at the *lower* end of the line of lymph that such opaque points were found, thus showing that they were composed of something possessing a higher density than the lymph itself, as otherwise there was no apparent reason why they should not also be met with at the upper limit of each thread of lymph where air was also present.

This appearance was quite independent of any coagulation in the lymph, indeed on breaking some of the tubes in which it was most marked, no coagulum was found. On the other hand, where clotting had taken place after the lymph was stored, the opacity was often not in discrete points as in the other tubes, but formed with the coagulum a central whitish thread in the midst of a clear fluid. In these cases, the tiny particles of which an opaque point was obviously composed had apparently become more or less entangled with the fine thread of fibrin which had resulted from the process of coagulation.

Cultivation experiments were then carried out, gelatine tubes being inoculated from opaque points in stored tubes, and also, as a control, from tubes of comparatively fresh lymph, the capillary tubes used in these experiments having been sterilized previous to their being filled with lymph. In each case plate cultures were made from dilutions of the gelatine tubes first inoculated. As a result, many more colonies were found in the plates poured from inoculations of the old tubes than from those descended from the fresher lymph. We are therefore apparently justified in considering that the opacity of old stored lymph is, in the main, the outcome of an enormous multiplication of aerobic bacteria, the ancestors of which are present in the lymph when first taken, although their numbers are then so comparatively small as not to render it in any way turbid.

As I have already shown, a certain amount of heat, when applied to lymph in sealed capillary tubes, inhibits the growth of these aerobic bacteria, while a still higher temperature kills them. The exposure of freshly stored lymph, then, to a proper temperature for a sufficient length of time, ought to prevent the subsequent appearance of opacity, and such is apparently the case. Without great care, however, there is in this method, considerable danger of rendering the lymph inert. A simpler method of obtaining the desired result, however, is found in the admixture of the lymph with a certain proportion of 50% glycerine in distilled and sterilized water prior to storage in capillary tubes which also should have previously been sterilized by heat.

Müller showed long ago that lymph might be diluted with three times its bulk of such a mixture, and still retain its properties unimpaired, a fact which has been taken advantage of by more than one purveyor of trade lymph. Experiment shows that not only is this so, at any rate for a considerable time, but also that in tubes filled with such diluted lymph, opacity does not apparently result. The glycerine appears to inhibit the growth of those aërobic bacteria, which in former parts of this paper I have termed "extraneous," signifying by that term that their presenee is not in any way essential, indeed probably rather the reverse, to the successful action of the vaccine lymph. Whether or not the actual "vaccine virus" is capable of increasing in such a proteid and glycerine-containing mixture, it is not easy to say, but before I had read of Müller's advocacy of such treatment, I had employed it for the reason that other pathogenic organisms have been shown to grow more luxuriantly in a mixture to which glycerine has been added, while with saprophytic organisms this is not the case. Another argument in favour of the use of lymph diluted in this way with glycerine, is found in the fact that, as before stated, such a mixture does not dry up nearly as readily as ordinary lymph, and therefore in the hands of operators, all but the most expert, affords greater facilities towards the attainment of a uniformly successful series of vaccinations. The fact also that a much larger supply of lymph would thus be available is so obvious that it needs not to be insisted on.

In conclusion, I can only look upon this paper as a preliminary communication, and so, while apologizing for the slight amount of progress in our knowledge which it records, I bring forward such an account of work that has been done in the hope that the lines herein laid down may possibly be of service in the future elucidation of this most difficult but most important subject.

On the Bacteriology of Vaccine Lymph.*

BY

Professor CROOKSHANK.

Cohn, in 1872, described micrococci in vaccinal vesicles. Quist and Ferré, in 1883, investigated the same subject. Voigt, in 1885, distinguished three species of micrococcus—a diplococcus, a large coccus, and a third form. Bauer, in the same year, described the presence of bacilli and sphærococci. Marotta, in 1886, regarded a tetracoccus as the specific micro-organism, and Tenhot, in 1887, distinguished a dozen micrococci, two bacilli, and two yeasts. In the same year, Garré isolated a micrococcus, which appeared to him to be the contagium, but inoculated

* Abstract of remarks accompanying lantern demonstration.

on a child it neither produced local vesicles or immunity, while Guttman pointed out three micro-organisms which appeared to be rather more constantly present than others. Pfeiffer much more fully investigated the bacteriology of vaccine lymph and found a *saccharomyces* occasionally in human lymph and constantly in calf lymph; four species of sarcinæ (*sarcina lutea*, *tetragonus*, *aurantiaca*, and *muscopus*); *proteus vulgaris*; bacilli which did not liquefy gelatine; *staphylococcus cereus albus* very frequently, and *staphylococcus pyogenes aureus* occasionally; *micrococcus pyogenes albus* almost constantly, and numerous other species of micrococcus. Professor Crookshank then gave in detail an account of his own researches, which extended over some years. They independently confirmed and extended the results obtained by Pfeiffer. Having on several occasions examined vaccine lymph and vaccine pus and failed to find a specific bacterium, he proceeded to make a more systematic examination of the different species of bacteria in different samples of vaccine lymph. Pure cultivations were obtained by Koch's method of plate cultivation, and the observations controlled by the simultaneous inoculation of the surface of agar agar, obliquely solidified in test tubes. Warlomont's, Renner's, Faulkner's, the Aldershot, and Lamb's Conduit Street stocks were used in the investigation. Among the specimens of calf lymph, No. 1 yielded a *torula*, *bacillus pyocyaneus* and *bacillus subtilis*; No. 2, a *bacterium*, a variety of *proteus*, *staphylococcus pyogenes aureus*, *yellow bacterium*; No. 3, a *bacterium*, *micrococcus*, *yellow bacterium* and *torula*; No. 4, *yellow micrococcus*, *white micrococcus*, *white torula*, *yellow sarcina*, *white diplococcus*, *staphylococcus cereus albus*, and a *mould fungus*; No. 5, *yellow sarcina*, *staphylococcus pyogenes aureus*, *yellow micrococcus*, *white bacillus*, *staphylococcus pyogenes albus*, *large white micrococcus*, *yellow bacterium*, and a *white micrococcus*. Among the specimens of human vaccine lymph, No. 1 contained a *white micrococcus*, *proteus*, and *staphylococcus pyogenes aureus*; No. 2, a *micrococcus*, a *tetracoccus*, a *white liquefying micrococcus*, and a *yellow bacterium*; No. 3, *white micrococcus*, *yellow micrococcus*, *staphylococcus aureus* and *flavus*, a *bacterium*, a *white micrococcus*, a *bacillus* resembling *bacillus subtilis*, *staphylococcus pyogenes cereus*, and a *brown tetracoccus*. The writer was familiar with these different species of bacteria; none of them is peculiar to vaccine lymph; there was no bacterium constantly present in human and calf vaccine, and there was not one which could be regarded as the contagium. To sum up, most of them were well known saprophytic bacteria, and some were identical with bacteria commonly found in suppuration. Vaccine lymph was a most suitable cultivating medium for micro-organisms, and bacteria invariably got access to the contents of the vaccine vesicle. There was no evidence to be obtained by the present methods of research as to the bacterial nature of the contagium of vaccine lymph, and Professor Crookshank was led to hope that a different line of inquiry would throw more light upon the subject.

A Cheap Incubator and Steam Steriliser, with Improved Moist Chambers for Plate Cultivations and Interlamellar Cultivations.

BY

SHERIDAN DELÉPINE, M.B., B.Sc.

Lecturer on Pathology, St. George's Hospital, London.



THE object I had in mind when I designed this new form of incubator was to obtain, at a *moderate cost*, a series of incubators not very bulky, in which I could carry on cultivations of pathogenic and other organisms at various temperatures in a place not specially fitted up for bacteriological work.

Each apparatus is composed of a bell jar of tinned sheet iron (zinc or nickel would of course be preferable), and is provided with a tubulure of large size, through which a thermometer and thermo-regulator can be passed when desired. This bell is made to rest in a large metal basin (about 35 cm. in diameter; such basins can now be obtained almost anywhere for a few pence).

This basin itself is supported by a nearly closed chamber perforated at the top, and having a side door, through which a night light can be introduced. The bottom of the basin is separated from the top of the warming chamber by three or four short supports (Fig. 1).

On the bottom of the basin another smaller basin is placed upside down; the sides of this smaller basin are perforated near the bottom. On this inverted basin are placed the objects which it is desired to sterilise. For *sterilisation purposes* (Fig. 2), the upper part of the apparatus, *i.e.*, the tin basin and the bell jar, are placed on an ordinary iron tripod, and after the tubes, or flasks, or capsules containing various nutrient media have been placed on the bottom of the inverted basin within the bell jar, a Bunsen burner is lighted under the basin, into which a proper amount of water has been previously poured. The water covered by the inverted basin soon boils, and as the steam escapes through the perforations made in the sides, which must be above the level of the water, the bell jar is soon filled with steam, which reaches a temperature of 95° to 96° C. In order to obtain a higher temperature it is sufficient to occlude the upper opening with a perforated cork and to place over the opening in the cork a light glass plate (Fig. 2), which acts as a valve, and, if of proper weight, will cause the temperature to rise to 99·5°. (This temperature is not quite constant; it regularly oscillates between 97° and 99·5°, for the water passes alternately from the part of the basin covered by the bell jar into that not covered, and *vice versa*, owing to alternate rise and fall of pressure within the jar. This indicates one of the ways in which the temperature of this hot chamber may be regulated automatically.)

After a sufficient exposure to heat, the whole apparatus is allowed to cool, and is now ready to be placed over the warm chamber, *where it*

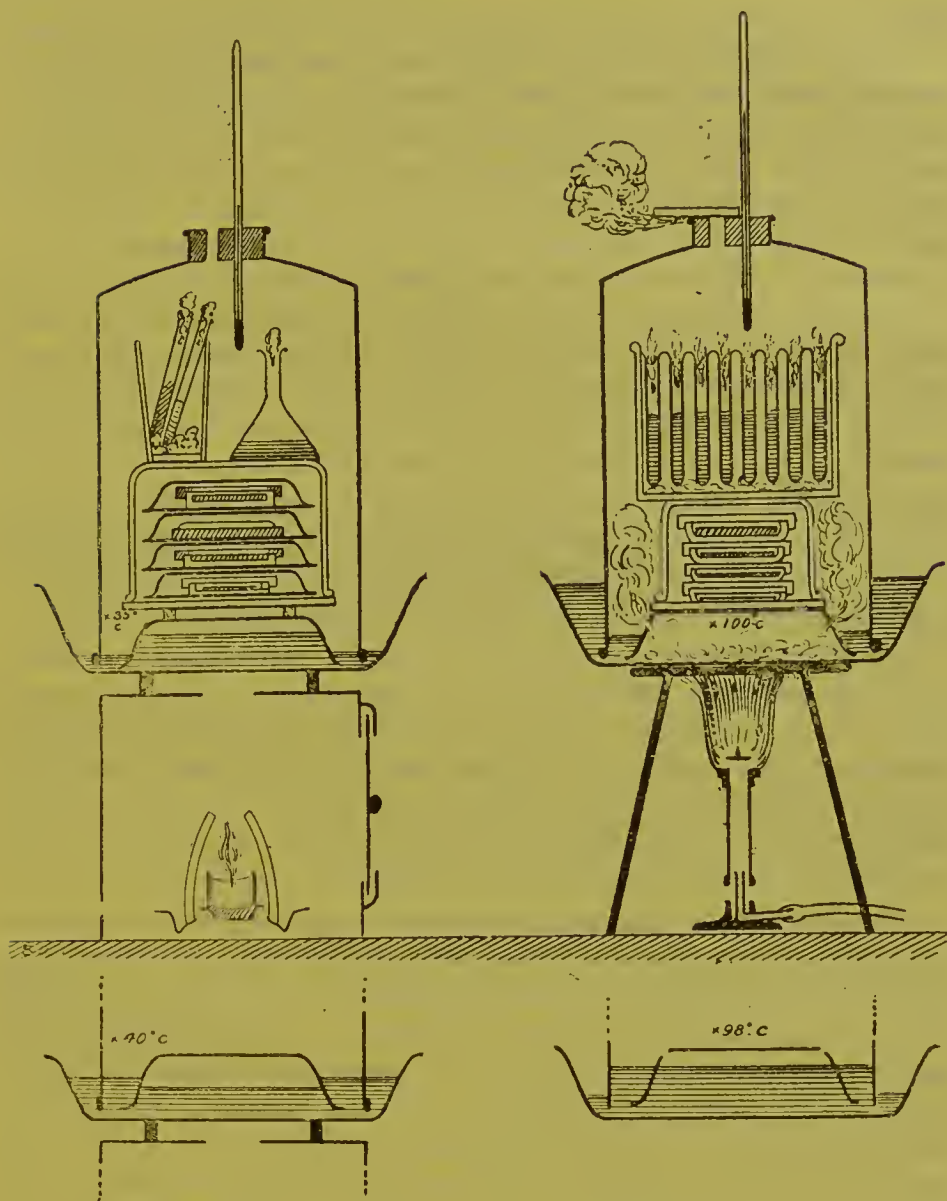


FIG. 1.

FIG. 2.

becomes an incubator. After sterilisation the whole apparatus can be kept for a few days at a temperature of 30° or 35° C., and then the tubes, flasks, capsules, &c., are ready for inoculation, for the absence of any growth shows that they are certainly sterile.

When the apparatus is used as an incubator in a room, the temperature of which does not vary by more than about 5° C., it is easy to keep the incubator at temperatures almost constant by means of single night lights. According to the distance at which the night light is placed, it is possible to get all the gradations desirable between 15° and 50° C.

By using maximum and minimum thermometers I have been able to ascertain that the amount of variation taking place within the incubator was not more than 2° C. in the 24 hours, so that it is evident that a certain amount of automatic regulation of heat must take place. This

is partly due to the increased rapidity of the hot draught coming from the warm chamber, which prevails when the external temperature becomes lower, and partly to the condensation of steam taking place on the sides of the bell jar. This regulation is aided by replacing the inverted basin used for sterilisation by one not perforated at the sides (Fig. 1), so that when the temperature falls within the incubator the water is drawn into this small chamber, and as this small chamber is situated immediately above the light, it becomes rapidly hotter. Immediately, however, that the temperature rises again, the water passes again out of this basin or capsule. It is, of course, important that the lowermost cultivations should be separated from this regulating chamber by a certain amount of space, so that the lowermost moist chamber must not be made to rest directly on the bottom of the inverted basin; for this reason I usually fix to the glass plate forming the bottom of the moist chambers three or four pieces of cork. In this way the temperature of each moist chamber is rendered more independent of the metallie parts through which heat might be conducted (Fig. 1).

Nothing of course prevents the use of an ordinary heat regulator and of gas with this apparatus, but as I offer it not to replace the more perfect forms of incubator, but simply as a sufficiently reliable and cheap apparatus readily applicable to a great variety of experiments for which the larger incubators are not suitable, owing to their bulk, their expense and difficulty of adaptation,* I will not attempt to show how my incubator might be advantageously complicated.

I may add that the temperature of the upper part of the incubator is always lower than that of the lower part; the difference varies according to the size of the chambers, but is usually about $5^{\circ}\text{C}.$ † I therefore place in each incubator two moist chambers. The temperature of each chamber is ascertained by means of a *maximum thermometer placed within the chamber itself*. The form of *moist chamber* I have devised is convenient for use with this incubator, and takes less room than the usual form. The condensed water is also less liable to drop on the objects placed in the chamber. The chamber itself is composed of a glass plate covered with a flat bottomed basin or crystallizer (Fig. 1). The glass plate is covered with two or three rounds of filter paper, over which a flat capsule containing a solution of corrosive sublimate (1 in 1,000) is inverted. In this way the filter paper is constantly kept moist. The capsules used for cultivations are more easily handled when placed in small frames made of two bands of zinc soldered together at each end so as to enclose the capsule. In this way they can be piled on the top of each other, and any one removed without disturbing

* My later experiments on pathogenic moulds and on psorospermosis were all made by means of these incubators.

† By using two concentric bell jars separated by a small interval, it is easy to render the temperature more uniform all through the incubator. I have used this disposition several times, but have not found it necessary in most cases. The same arrangement allows a higher degree of heat to be obtained in the steriliser also (fig. 9).

the other. A thermometer can also be placed between two adjacent capsules so as to show the exact temperature at which they are kept.

The method of interlamellar cultivations, some of which were exhibited in the museum,* has been pretty fully described in the Lancet this year.†

	s.	d.
The cost of the bell jar is - - -	2	6
That of the warming chamber - - -	2	6
The night light support - - -	0	6
Each moist chamber - - -	1	0
12 frames for capsules, &c. - - -	2	0
	<hr/>	<hr/>
	8	6

This is the cost of the first incubator I had made; if several were made together they could undoubtedly be obtained much cheaper, about 4s. or 5s. each. Any tinman can make such an apparatus.

Such incubators allow cultivations to be kept constantly at eight different temperatures. Wherever gas can be used without danger a regulator can be easily added, and the trouble of changing the night lights daily is obviated. The cost is of course slightly increased, but the incubator becomes as reliable as the most expensive ones, and for the same money as one would have to pay for an ordinary incubator one is able to obtain eight or ten of my simple incubators, a thing which proves a great advantage in experimental work.

* Cultivations of the following organisms were exhibited :--*Psorospermia* from rabbit's liver; *Aspergillus fumigatus*, and *A. niger*; an *Oidium*; *B. pyocyaneus* and *B. mycoides*.

† Lancet, June 1891.



INDEX.

A.	Page	B.	Page
Ackerley (Dr. R.), cases of cancer in Devonshire, communicated by - - - -	75	Babes (Prof. V.), L'infection hémorrhagique bacterinne chez l'homme - - - -	98
Actinomyces, The morphology of. (Prof. E. M. Crookshank) -	105	— — —, remarks in discussion on immunity - - -	178
Adami (J. G., M.B.), remarks in discussion on immunity -	178	Bacille d'Eberth, Rapports du bacillus coli communis avec le, et l'étiologie de la fièvre typhoïde. (Prof. Arloing) - - -	272
Address, presidential. (Sir J. Lister, Bart., F.R.S.) - -	9	— typhique et du bacillus coli communis dans les eaux de boisson, La recherche du. (Dr. H. Vincent) - - -	278
Aetiology and toxicologie der cholera asiatica. (Prof F. Hueppe) - - -	28	Bacillus anthracis in the air, On the presence of spores of the. (R. Wurtz, M.D., and Samuel Lodge, M.D.) - - -	238
Alouette, hématozaires de l' (Figure) - - -	16	— buccalis muciferens - - -	50
Angina Ludovici, causes of -	44	— — — septiens - - -	52
Animaux tuberculeux, Sur l'utilisation des viandes des. (Prof. E. Perroncito) - - -	203	— coli communis avec le bacille d'Eberth, Rapports du, et l'étiologie de la fièvre typhoïde. (Prof. Arloing) - - -	272
Anthax, On Wooldridge's method of producing immunity against, by the injection of solutions of tissue-fibrinogen. (A. E. Wright, M.D.) - - -	164	— — — dans les eaux de boisson, La recherche du bacille typhique. (Dr. H. Vincent) -	278
Arloing (Prof.), Rapports du bacillus coli communis avec le bacille d'Eberth, et l'étiologie de la fièvre typhoïde - -	272	— lepræ, Demonstration on a case of tubercular leprosy to show the different characters presented by the, in the various organs of the same patient. (Sheridan Delépine, M.B.) -	235
— — —, remarks in discussion on l'utilisation des viandes des animaux tuberculeux - -	209	— of sputum septicæmia -	51
— — —, remarks in discussion on immunity - - -	176	— pneumoniæ (pneumobacillus) - - -	51
Arsenical wall-paper, The influence of microphytes on. (Dr. B. Gosio) - - -	316	Bacteria of month cultivable on artificial media, list of - -	45
Auditory meatus (external), Demonstration of some pathogenic moulds found in inflammatory lesions of the, and of the effects of temperature and of pabulum on their growth and vital concurrence. (Sheridan Delépine, M.B.) - - -	107	— in the mouth, prophylaxis -	53
		— in the small intestine of man, The behaviour of. (Allan Macfadyen, M.D.) - - -	60
		—, the pathogenic mouth -	45
		Bacterial necrosis of the liver. (J. Hamilton, M.B.) - - -	95

	Page		Page
Bacteriological examination of drinking water, with special reference to the Dublin water-supply. (Edmond J. McWeeney, M.D.) - - -	294	Cancer, geographical distribution of - - -	74
Bacteriology of vaccine lymph, On the. (Prof. E. M. Crookshank)	326	——, increase in the prevalence of	80
—— of vaccine lymph, The. (S. Monckton Copeman, M.D.) -	319	——, Recherches sur la nature parasitaire du. (Prof. Simon Duplay et Dr. Maurice Cazin) -	81
Ballance (Charles A., F.R.C.S.) and Shattock (Samuel G., F.R.C.S.), An exposition of the reasons for considering cancer to be an infective disease -	70	—— to be an infective disease, An exposition of the reasons for considering. (Samuel G. Shattock, F.R.C.S., and Charles A. Ballance, F.R.C.S.) - -	70
Bang (Prof.), Le danger supposé de la consommation du lait et de la viande sains en apparence mais provenant d'animaux atteints de la tuberculose - -	193	Caries, Dental. (Henry Sewill, M.R.C.S.) - - -	57
Bardach (Dr. J.), L'emploi de la tuberculine comme moyen préventif et comme traitement de la tuberculose - - -	209	——, predisposing causes of -	57
Barlow (Dr.), remarks in discussion on l'utilisation des viandes des animaux tuberculeux -	208	Celli (Prof. Angelo), Sur les parasites du globule rouge - -	20
Bänmller (Prof.), remarks in discussion on the human mouth as a focus of infection - -	59	Cholera asiatica, Ueber die Aetiology und Toxicologie der. Prof. F. Hueppe) - - -	28
Behaviour of bacteria in the small intestine of man. (Allan Macfadyen, M.D.) - - -	60	Christmas (M. J. de), Les substances microbicides du sérum -	173
Behring (Dr.), Ueber desinfection am lebenden Organismus -	239	Coccidies (Tumeurs à) de l'intestin grêle du mouton. (Prof. Ed. Nocard) - - -	94
Bruce (Dr.), remarks in discussion on the ætiology and toxicology of cholera asiatica - -	41	Considérations sur l'hygiène de la tuberculose, Quelques. (Dr. Fejeda) - - -	231
Buchner (Dr. Hans), remarks in discussion on disinfection -	271	Cook (Surgeon-General), remarks in discussion on the etiology of paludism - - -	19
—— —, remarks in discussion on immunity - - -	179	Cooper (Ardaseer V. Cooper), remarks in discussion on the etiology of paludism - -	19
—— —, Ueber Immunität, deren natürliches Vorkommen und künstliche Erzeugung - -	124	Copeman (S. Monckton, M.D.), The bacteriology of vaccine lymph -	319
		"Corps à fuchsine" of Mr. Russell - - -	84
		Crookshank (Professor E. M.), On the bacteriology of vaccine lymph - - -	326
		—— —, On the question of the identity of streptococcus pyogenes and streptococcus erysipelatosus - - -	68
		—— —, On streptococcus pyogenes - - -	67
		—— —, remarks in discussion on the etiology of paludism -	18
		—— —, The morphology of actinomyces - - -	105
		Cunningham's (Dr.), theory of Asiatic cholera, compared with Koch's - - -	29

C.

Cancer as a parasitic disease, reasons for regarding - -	74
——, case related by Mr. Lawrence of Hammersmith - -	75
——, investigations into the distribution of, by Dr. Haviland -	75
——, four cases of, in Devonshire, communicated by Dr. R. Ackerley - - -	75

D.		Page
Danger supposé de la consommation du lait et de la viande sains en apparence mais provenant d'animaux atteints de la tuberculose. (Professor Bang)	-	193
Defensive proteids—"Phylaxin"	-	151
———, "Sozin"	-	150
———, further sub-divisions of	-	151
Delépine (Sheridan, M.B.), A cheap incubator and steam steriliser, with improved moist chambers for plate cultivations and interlamellar cultivations	-	328
———, Demonstration of some pathogenic moulds found in inflammatory lesions of the skin, external auditory meatus and lungs, and of the effects of temperature and of pabulum on their growth and vital concurrence	-	107
———, Demonstration on a case of tubercular leprosy to show the different characters presented by the bacillus lepræ growing in the various organs of the same patient	-	235
———, Pretubercular lesions in phthisis pulmonalis	-	222
———, Psorospermiosis as a possible cause of epithelial tumours	-	85
Demonstration of some pathogenic moulds found in inflammatory lesions of the skin, external auditory meatus, and lungs, and of the effects of temperature and of pabulum on their growth and vital concurrence. (Sheridan Delépine, M.B.)	-	107
——— on a case of tubercular leprosy to show the different characters presented by the bacillus lepræ growing in the various organs of the same patient. (Sheridan Delépine, M.B.)	-	235
Dental caries (Henry Sewill, M.R.C.S.)	-	57
Desinfection am lebendem Organismus (Dr. Behring)	-	239
Desinfectiousmittel und die Methoden ihre Wirksamkeit zu prüfen, Ueber. (Professor Max Grüber)	-	255
Desinfectiousmittel, Ueber Kresole als (Professor F. Hueppe)	-	263
Diphtheria-immune rabbit, antitoxic power of the serum of a	-	147
Diplococcus pneumoniae, On immunity to (Professor Foà)	-	172
Disease, An exposition of the reasons for considering cancer to be an infective (S. G. Shattock, F.R.C.S., and C. A. Ballance, F.R.C.S.)	-	70
Diseases of the human body which have been traced to the action of mouth bacteria	-	44
Drinking-water, The bacteriological examination of, with special reference to the Dublin water-supply. (Edmond J. McWeeney, M.D.)	-	294
Dublin water-supply, The bacteriological examination of drinking water, with special reference to the. (Edmond J. McWeeney, M.D.)	-	294
Duplay (Professor Simon) et Cazin (Dr. Maurice), Recherches sur la nature parasitaire du cancer	-	81
E.		
Ehrlich (Professor) remarks in discussion on immunity	-	177
———, remarks in discussion on tuberculosis	-	221
———, Ueber neuere Erfahrungen in der Behandlung der Tuberkulose nach Koch, insbesondere der Lungenschwindsucht	-	211
Emmerich (Professor Rudolf) und Fawitzky (Dr. Alexander), Die künstliche Erzeugung von Immunität gegen croupöse Pneumonie, und die Heilung dieser Krankheit	-	152
Emploi de la tuberculine comme moyen préventif et comme traitement de la tuberculose, L'. (Dr. J. Bardach)	-	209
Étiologie du paludisme, De l' (Professor A. Laveran)	-	10

F.

	Page
Fawitzky (Dr. Alexander) und Emmerich (Professor Rudolf), Die künstliche Erzeugung von Immunität gegen croupöse Pneumonie, und die Heilung dieser Krankheit - -	152
Fejeda (Dr.), Quelques considérations sur l'hygiène de la tuberculose - - -	231
Fermentations excited by specific micro-organisms, Some. (Professor P. F. Frankland, F.R.S.) -	310
Fièvre typhoïde, Rapports du bacillus coli communis avec le bacille d'Eberth, et l'étiologie de la (Professor Arloing) - -	272
Foà (Professor), On immunity to diplococcus pneumoniae -	172
Fodor (Professor), remarks in discussion on immunity - -	177
Frankland (Dr. Percy F.), Some fermentations excited by specific micro-organisms - -	310
—— —, The hygienic value of the bacteriological examination of water - - -	291

G.

Globule rouge, Sur les parasites du (Professor Angelo Celli) -	20
Gosio (Dr. B.), The influence of microphytes on arsenical wallpaper - - -	316
Gregarinæ or psorospermia, conditions fulfilled by, as a source of epithelial tumours - -	88
Grüber (Professor Max), remarks on disinfection - - -	271
—— —, remarks on the ætiology and toxicology of cholera Asiatica - - -	41
—— —, Ueber eine neue Eiterung erregende Microbienart: Micromyces Hofmanni - -	65
—— —, Ueber Desinfectionsmittel und die Methoden ihre Wirksamkeit zu prüfen - -	255

H.

Hamilton (Prof. J., M.D.), On bacterial necrosis of the liver -	95
---	----

Page

Hamilton (Prof. J., M.D.), remarks in discussion on paper Sur l'utilisation des viandes des animaux tuberculeux - - -	204
Hankin (E. H., M.B.), On immunity - - -	145
Heilwirkung des Gewebssaftes von Kaninchen, welche durch subcutane Injection abgeschwächter Culturen immunisirt wurden. Heilgeimpftes Kaninchen -	156-9
—— (vollständige) des Gewebssaftes, welcher aus dem, durch intravenöse Injection kleiner Mengen vollvirulenter. Cultur immunisirten Kaninchen, gewonnen wurde - - -	160
Hime (Dr.), remarks in discussion on paper Sur l'utilisation des viandes des animaux tuberculeux -	206
Hühner-Cholera-Epidemie, Ueber die Möglichkeit einer vom Brunnenwasser ausgehenden. (Dr. Arnulf Schoenwerth) -	306
Hnepe (Prof. F.), remarks on the etiology of paludism - -	20
—— —, remarks in discussion on immunity - - -	175
—— —, remarks in discussion on tuberculosis - - -	220
—— —, Ueber die Aetiologie und Toxicologie der Cholera asiatica -	28
—— —, Ueber Kresole als Desinfectionsmittel - - -	263
Hygienic value of the bacteriological examination of water, The. (Prof. Percy F. Frankland) -	291

I.

Immunisirung - - -	159
Immunität gegen croupöse Pneumonie, die künstliche Erzeugung von, und die Heilung dieser Krankheit. (Prof. Rudolf Emmerich und Dr. Alexander Fawitzky) - - -	152
Immunität gegen croupöse Pneumonie durch subcutane Injection abgeschwächter Culturen von Diplococci (tables) - - -	153
—— (Ueber) deren natürliches Vorkommen und künstliche Erzeugung. (Dr. Hans Buchner) -	124

	Page
animals to man by means of flesh and milk derived from tuberculous animals - -	197
McWeeney (Edmond J., M.D.), The bacteriological examination of drinking water with special reference to the Dublin water supply - - -	294
Metchnikoff (Prof.), La tuberculose - - -	229
— —, remarks in discussion on immunity - - -	179
Micrococci of sputum septicaemia -	47
Micro-organisms, Some fermentations excited by specific. (Prof. P. F. Frankland) - - -	310
Microphytes on arsenical wall-paper, The influence of. (Dr. B. Gosio) - - -	316
Miller (W. D., M.D.), The human mouth as a focus of infection -	42
Mittheilungen ueber Versuche mit dem Dr. Nordtmeyer-Berkefeld'schen Kieselguhr-filter. (Dr. Prochnik) - - -	301
Morphology of actinomyces, The. (Prof. E. M. Crookshank) -	105
Mouth bacteria, the pathogenic -	45
—, infections following operations in the - - -	45
—, (The human), as a focus of infection. (W. D. Miller, M.D.)	42

N.

Nocard (Prof.), remarks in discussion on paper sur l'utilisation des viandes des animaux tuberculeux - - -	205
— —, Tumeurs à coccidies de l'intestin grêle du mouton -	94
Nordtmeyer-Berkefeld'schen Kieselguhr-filter, Mittheilungen ueber Versuche mit dem Dr. (Dr. Prochnik) - - -	301
North (W.), remarks in discussion on the etiology of paludism -	19
Necrosis of the liver, On bacterial. (J. Hamilton, M.D.) - - -	95
—, summary of facts concerning bacterial - - -	97
Nutrient media, effects of, on <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>Oidium</i> - - -	108

O.

	Page
Organismus, Ueber Desinfection am lebenden. (Dr. Behring) -	239

P.

Paludisme, corps en croissant -	12
—, corps segmentés ou en rosace - - -	12
—, corps sphériques - - -	12
—, De l'étiologie du. (Prof. A. Laveran) - - -	10
—, flagella - - -	12
—, hématozaires du (Figure) -	11
—, leucocytes mélanifères -	12
Papers (originally contributed to Section II.) transferred to Vol. III., list of - - -	290
Parasites du globule rouge, Sur les. (Prof. Angelo Celli) - - -	20
—, transmissibilité des, au moyen des inoculations du sang qui en contient - - -	25
Pathogenic and non-pathogenic moulds at various temperature, vital concurrence of - - -	109
— mouth bacteria - - -	45
— organisms, method of examining saliva for - - -	46
Perroncito (Prof. E.), remarks in reply - - -	208
— —, Sur l'utilisation des viandes des animaux tuberculeux	203
Phthisis and general tuberculosis, differences between the pulmonary lesions observed in -	222
— pulmonalis, Pretubercular lesions in. (Sheridan Delépine, M.B.) - - -	222
Plate cultivations, incubator and steam steriliser, with improved moist chambers for. (Sheridan Delépine, M.B.) - - -	328
Pneumonie, die künstliche Erzeugung von Immunität gegen croupöse Pneumonie, und die Heilung dieser Krankheit. (Prof. Rudolf Emmerich und Dr. Alexander Fawitzky) - - -	152
Pouffiek (Prof.), remarks in discussion on tuberculosis - - -	221
Presidential address. (Sir J. Lister, Bart, F.R.S.) - - -	9
Pretubercular lesions in phthisis pulmonalis. (S. Delépine, M.B.)	222

	Page		Page
Presence of spores of the bacillus anthracis in the air, On the. (R. Wurtz, M.D., and Samuel Lodge, M.D.) - - - -	238	Sérum, Les substances microbicides du. (M. J. de Christmas) -	173
Prochnik (Dr.), Mittheilungen ueber Versuche mit dem Dr. Nordtmeyer - Berkefeld'schen Kieselguhr-filter - - -	301	Sewill (Henry), Dental caries -	57
Proteids, two classes of defensive -	150	Schoenwerth (Dr. Arnulf), Ueber die Moeglichkeit einer von Brunnenwasser ausgehenden Hühner-Cholera-Epidemie - - -	306
Psorospermia in a number of tumours observed in man, result of a search for - - -	90	Shattoek (Samuel G., F.R.C.S.), Ballance (Charles A., F.R.C.S.), An exposition of the reasons for considering cancer to be an infective disease - - -	70
— or gregarinæ, conditions fulfilled by, as a cause of epithelial tumours - - -	88	— —, The relation of certain organisms to the fermentation of urine - - -	314
—, papillomatous growth of the walls of psorospermic nodules in rabbit's liver (\times about 600), plate showing - - -	89	Sibley (Walter K., M.D.), Inoculated tuberculosis in snakes - - -	231
Psorospermiosis as a possible cause of epithelial tumours. (Sheridan Delépine, M.B.) - - -	85	Skin, Demonstration of some pathogenic moulds found in inflammatory lesions of the, and of the effects of temperature and of pabulum on their growth and vital concurrence. (Sheridan Delépine, M.B.) - - -	107
—, effects produced by, in the liver of the rabbit - - -	89	Snakes, Inoculated tuberculosis in. (Walter K. Sibley, M.D.) -	234
Psorosperms, explanation of figure showing - - -	87	Sputum septicæmia, experiments relating to the question of immunity to - - -	53
—, figure showing - - -	86	— —, loss of virulence of the sputum cocci - - -	52
R.		Steam steriliser, with improved moist chambers, for plate cultivations and interlamellar cultivations, A cheap incubator and. (Sheridan Delépine, M.B.) -	328
Rapports du bacillus coli communis avec le bacille d'Eberth, et l'étiologie de la fièvre typhoïde. (Prof. Arloing) - - -	272	Streptococcus erysipelatosus, On the question of the identity of streptococcus pyogenes and. (Prof. E. M. Crookshank) -	68
Recherche du bacille typhique et du bacillus coli communis dans les eaux de boisson, La. (Dr. H. Vincent) - - -	278	— pyogenes, On. (Prof. E. M. Crookshank) - - -	68
Recherches sur la nature parasitaire du cancer. (Prof. Simon Duplay et Dr. Maurice Cazin) - -	81	— — and S. erysipelatosus, On the question of the identity of. (Prof. E. M. Crookshank) -	68
Relation of certain organisms to the fermentation of urine, The. (Samuel G. Shattoek, F.R.C.S.)	314	Substances microbicides du Sérum, Les. (M. J. de Christmas) -	173
Roux (Dr.), De l'immunité: immunité acquise et immunité naturelle - - -	110	T.	
— —, remarks in discussion on disinfection in the living organism - - -	253	Teeth, decay of - - -	43
S.		Temperature, effects of in cultivation of some pathogenic moulds -	109
Sanderson (Prof. J. Burdon), Introductory paper on the ætiology of tuberculosis in all its relations	184	Tetanus and tubercle, geographical distribution of - - -	74

	Page
Tissue-fibrinogen, action of	168
—, character of the ash yielded by	168
—, effect of boiling solution of	167
—, effect of artificial peptic digestion on	167
—, from the extracts by acetic acid, precipitation of	166
—, from the organs, extraction of	166
—, in producing immunity, action of	169
— solution, characters of	165
—, evidence as to the nature of	166
—, method of preparing	164
—, On Wooldridge's method of producing immunity against anthrax by the injection of solutions of. (A. E. Wright, M.D.)	164
Transmission of tuberculosis from animals to man, by means of flesh and milk derived from tuberculous animals, On the. (Prof. McFadyean and G. Sims Woodhead, M.D.)	197
Trinkwasser, Ueber eine ausgebreitete Typhusepidemie in Verbindung mit. (Prof. Josef v. Fodor)	282
Tuberculine comme moyen préventif et comme traitement de la tuberculose, L'emploi de la. (Dr. J. Bardach)	209
Tuberculose, Contribution à l'étude de la. (Prof. Metchnikoff)	229
—, Le danger supposé de la consommation du lait et de la viande sains en apparence mais provenant d'animaux atteints de la. (Prof. Bang)	193
—, L'emploi de la tuberculine comme moyen préventif et comme traitement de la. (Dr. J. Bardach)	209
—, Quelques considérations sur l'hygiène de la. (Dr. Fejeda)	231
—, differences between the pulmonary lesions observed in phthisis and in general	222
— from animals to man, by means of flesh and milk derived from tuberculous animals, On the	

	Page
transmission of. (Prof. McFadyean and G. Sims Woodhead, M.D.)	197
Tuberculose in snakes, Inoculated. (Walter K. Sibley, M.D.)	234
—, Introductory paper on the ætiology of, in all its relations. (Prof. J. Burdon Sanderson)	184
—, lesions not essentially tubercular from the first, complicated with, after a time	225
—, primary pulmonary, compared with ordinary phthisis	224
Tuberculous animals, transmission of tuberculosis from animals to man, by means of flesh and milk derived from, On the. (Prof. McFadyean and G. Sims Woodhead, M.D.)	197
— disease, proportion contributed by, to the total of deaths from all causes	188
— meat, estimation of dangers attendant on the consumption of	191
Tuberkulin, Heilwirkung des	218
Tuberkulin-wirkung, theorie der	211
Tuberkulose nach Koch, Ueber neuere Erfahrungen in der Behandlung der. (Prof. Ehrlich)	211
Tumour, conditions which a parasite must fulfil to be supposed a possible cause of malignant epithelial	85
Tumeurs à coccidies de l'intestin grêle du mouton. (Prof. Ed. Nocard)	94
Tumours, Psorospermiosis as a possible cause of epithelial. (Sheridan Delépine, M.B.)	85
Typhusepidemie in Verbindung mit Trinkwasser, Ueber eine ausgebreitete. (Prof. Josef v. Fodor)	282

U.

Ueber eine ausgebreitete Typhusepidemie in Verbindung mit Trinkwasser. (Prof. Josef v. Fodor)	282
— eine neue Eiterung erregende Microbienart: Micromyces Hoffmanni. (Prof. Max Grüber)	65
— neuere Erfahrungen in der Behandlung der Tuberkulose nach Koch, insbesondere der Lungenschwindsucht. (Prof. Ehrlich)	211

Urine, The relation of certain organisms to the fermentation of. (Samuel G. Shattock, F.R.C.S.)	Page 314
Utilisation des viandes des animaux tuberculeux, Sur P. (Prof. E. Perroucito)	203

V.

Vaccine lymph, On the bacteriology of. (Prof. E. M. Crookshank)	326
— — —, The bacteriology of. (S. Monckton Copeman, M.D.)	319
Vincent (Dr. H.), La recherche du bacille typhique et du bacillus coli communis dans les eaux de boisson	278
v. Fodor (Prof. Josef) Ueber eine ausgebreitete Typhusepidemie in Verbindung mit Trinkwasser	282

W.

Water, The hygienic value of the bacteriological examination of. (Prof. Percy F. Frankland)	Page 291
Woodhead (G. Sims, M.D.), and Prof. McFadyean On the transmission of tuberculosis from animals to man, by means of flesh and milk derived from tuberculous animals	197
Wooldridge's method of producing immunity against anthrax by the injection of solutions of tissue-fibrinogen, On. (A. E. Wright, M.D.)	164
Wright (A. E., M.D.), On Wooldridge's method of producing immunity against anthrax by the injection of solutions of tissue-fibrinogen	164
Wurtz (R., M.D.), and Lodge Samuel, M.D.), On the presence of spores of the bacillus anthracis in the air	238



